



Università di Pisa

Scuola di Specializzazione in Farmacologia

Tesi di Specializzazione

Farmacologia clinica di daptomicina e linezolid

Relatore:

Dott. Antonello Di Paolo

Candidato:

Dott.ssa Paola Novelli

Anno Accademico 2010-2011

SOMMARIO

1)	INTRODUZIONE	2
2)	INFEZIONI GRAVI IN AMBITO OSPEDALIERO	6
2.1)	ENDOCARDITE INFETTIVA	6
2.2)	MALATTIE BATTERICHE DELLA CUTE	10
3)	DAPTOMICINA	19
3.1)	FARMACOLOGIA	21
3.2)	FARMACOCINETICA	22
3.3)	TOLLERABILITÀ	34
3.4)	FARMACODINAMICA	36
3.5)	SPETTRO ANTIMICROBICO	39
3.6)	SINERGIA CON ALTRI FARMACI	45
3.7)	RESISTENZA	49
3.8)	IMPIEGO CLINICO	53
3.9)	TOSSICITÀ	59
4)	LINEZOLID	63
4.1)	STRUTTURA	63
4.2)	STORIA	64
4.3)	FARMACOLOGIA	66
4.4)	FARMACOCINETICA	68
4.5)	SPETTRO D'AZIONE	74
4.6)	RESISTENZE	77
4.7)	INFORMAZIONI CLINICHE E TERAPEUTICHE	88
5)	CONCLUSIONI	91
6)	BIBLIOGRAFIA	96

1) INTRODUZIONE

Lo sviluppo degli agenti antimicrobici è stato molto dinamico e caratterizzato dal costante sorgere di nuove sfide scaturite dalla ricerca, dalla scoperta e dalla produzione di nuovi farmaci. Gli antibiotici sono sostanze chimiche prodotte da varie specie di microrganismi che sopprimono la crescita di altri microrganismi, potendo alla fine distruggerli. Gli antibiotici differiscono notevolmente tra di loro per le proprietà fisiche, chimiche e farmacologiche, per lo spettro d'azione antibatterico e per il meccanismo d'azione.

Esistono numerosi metodi di classificazione e di raggruppamento degli agenti antimicrobici. Tradizionalmente si preferisce classificare gli agenti antimicrobici basandosi sulla struttura chimica e sul meccanismo d'azione e precisamente:

- Agenti che inibiscono la sintesi della parete della cellula batterica o che agiscono su enzimi che conducono alla lisi cellulare;
- Agenti che agiscono interferendo con le funzioni ribosomiali, provocando inibizione del processo di sintesi proteica;
- Agenti che legano la subunità 30S del ribosoma batterico alterando la sintesi proteica e determinando la conseguente morte della cellula;
- Farmaci che alterano la permeabilità della membrana cellulare provocando la fuoriuscita di materiale intracellulare;
- Farmaci che alterano il metabolismo degli acidi nucleici;

- Antimetaboliti e analoghi degli acidi nucleici.

Nelle terapie antibiotiche numerosi fattori possono influenzare l'esito positivo. Il successo della terapia, infatti, dipende soprattutto dalla capacità del farmaco di raggiungere la sede dell'infezione e di avere un'attività antibatterica tale da inibire la crescita batterica. Un altro fattore determinante ai fini della terapia è rappresentato dai meccanismi di difesa dell'ospite. Meccanismi immunitari al massimo dell'efficienza favoriscono l'esito positivo della terapia, mentre quando le difese immunitarie dell'ospite risultano compromesse è necessaria la somministrazione di dosi di farmaco che possano assicurare la completa lisi e morte delle cellule batteriche, o comunque la somministrazione di farmaci che sia di per se' battericidi.

Nel saggiare l'attività di un nuovo agente antimicrobico si pone l'attenzione su due aspetti importanti, ovvero la "sensibilità" e la "resistenza". Sfortunatamente, lo spettro di attività (*sensibilità*) dell'agente può modificarsi in seguito all'impiego del chemioterapico a causa delle capacità dei microrganismi di sviluppare meccanismi di resistenza che permettano loro di sopravvivere anche in presenza dell'agente antimicrobico. Questo fenomeno della resistenza è il principale motivo che spinge i ricercatori allo sviluppo di nuovi antibiotici.

A partire dagli anni '90 si è sviluppata resistenza in numerose specie batteriche di Gram-positivi, tra cui Silverman *et al.* (2004), lo *Streptococcus pneumoniae* penicillino-resistente (PRSP), lo *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) e gli enterococchi vancomicino-resistenti (VRE). Le attenzioni sono state particolarmente rivolte verso i ceppi MRSA e VRE, patogeni responsabili di infezioni anche gravi sia in ambito ospedaliero che in comunità (Jones *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2005). Negli Stati Uniti, ceppi di enterococchi vancomicina-resistenti sono aumentati dal 2 a più del 25%. In Italia le segnalazioni di ceppi VRE, sono ancora rare, ma questi ceppi sono causa di infezioni ospedaliere caratterizzate da un'elevata percentuale di mortalità (fino al 30% dei casi). L'antibiotico-resistenza è principalmente dovuta all'intensa pressione antibiotica, legata ad un uso eccessivo e talora improprio del farmaco. E' l'antibiotico stesso, infatti, ad indurre la trascrizione dei geni necessari per lo sviluppo della resistenza. Questa resistenza può essere trasmessa da un ceppo all'altro con il trasferimento, tramite plasmidi, del materiale genetico contenente le informazioni necessarie oppure mediante meccanismi di trasformazione o coniugazione. Quindi, l'instaurarsi della resistenza agli antibiotici è dovuto ad una modificazione genetica stabile, trasmissibile di generazione in

generazione. Responsabile di questo fenomeno può essere un qualsiasi meccanismo che induca dei cambiamenti nella composizione genetica dei batteri.

La necessità di sviluppare farmaci antimicrobici per il trattamento di infezioni sostenute da microrganismi resistenti ha condotto allo studio e al successivo sviluppo di una nuova classe di antibiotici con meccanismo d'azione diverso rispetto a quello dei farmaci già in uso. Daptomicina è il principio attivo capostipite della nuova classe di antibiotici noti come lipopeptidi, sviluppata nei primi anni '80 dalla società Eli Lilly. Nonostante gli studi clinici avessero portato a risultati favorevoli, lo sviluppo della molecola è stato inizialmente interrotto a causa della tossicità osservata a carico della muscolatura scheletrica (Tall et al., 1999; Garrison et al., 1989). Ma l'elevata resistenza che andava emergendo tra i Gram-positivi ha nuovamente portato allo sviluppo, alla produzione e alla commercializzazione di Daptomicina (Tally et al., 1999). Sulla base di studi clinici condotti negli Stati Uniti e in Europa, Daptomicina è stata approvata nel settembre 2003 per il trattamento delle infezioni complicate della cute e dei tessuti molli (Tally e Debruin, 2000). I progressi ottenuti dall'uso del nuovo farmaco inducono a sperare in una migliore efficacia e sicurezza dello stesso.

2) INFEZIONI GRAVI IN AMBITO OSPEDALIERO

In ambito ospedaliero, sono numerose le malattie infettive che rappresentano una grave minaccia per la vita del paziente, sia per l'aggressività e la resistenza farmacologica del microorganismo responsabile dell'infezione, che per le condizioni di salute dell'individuo, e legate a comorbidità quali il diabete, o a stati fisiologici particolari, come l'età avanzata, la gravidanza, lo stato nutrizionale. In altri casi, la gravità dell'infezione può essere aumentata dalla sede del focolaio infettivo. Ad esempio, ascessi cerebrali o osteomieliti rappresentano delle vere e proprie sfide terapeutiche per la difficoltà con la quale si possono raggiungere concentrazioni dell'antibatterico efficaci ai fini dell'eradicazione del microorganismo. Di seguito verranno prese in esame due infezioni sostenute da batteri Gram positivi, ovvero le endocarditi e le infezioni della cute e dei tessuti molli. Il carattere che accomuna questi due tipi di infezioni risiede non solo nei microorganismi responsabili ma anche nella originaria sede di diffusione del focolaio infettivo, ovvero la cute.

2.1) ENDOCARDITE INFETTIVA

L'endocardite infettiva è un'infezione microbica delle valvole cardiache e, meno frequentemente, dell'endocardio. Al momento,

l'endocardite infettiva è responsabile di 1 caso su 1000 di ricoveri ospedalieri, con l'età del paziente aumentata nel corso degli anni (Dajiani et al.,1997). Infatti, mentre in era pre-antibiotica l'età media era di 32-39 anni, attualmente più della metà dei casi si verifica in pazienti di età superiore ai 60 anni e interessa il sesso maschile due volte più spesso di quello femminile.

Nell'endocardite infettiva, si sono osservati di recente due principali variazioni epidemiologiche. Innanzitutto, il tipo di organismi infettanti è cambiato. Infatti, i patogeni predominanti responsabili della batteriemia prima dell'avvento degli antibiotici erano lo *Streptococcus β -hemolyticus* di gruppo A, lo *Pneumococcus*, il *Gonococcus* e il *Meningococcus*, mentre attualmente sono più comunemente osservati lo *Streptococcus viridans*, lo *Staphylococcus aureus* meticillino-sensibile (MSSA) o meticillino resistente (MRSA), lo *Staphylococcus epidermidis* e in generale i germi Gram-negativi. Secondo, alcuni segni e sintomi una volta caratteristici della patologia sono oggi osservati in meno del 5% dei casi, come lesioni periferiche coinvolgenti la cute, le unghie e gli occhi.

L'endocardite può essere classificata in una forma acuta o subacuta sulla base del decorso clinico. La forma acuta, che

evolve nel giro di giorni o settimane, si accompagna a febbre alta, segni di tossicità sistemica e leucocitosi, con rapida distruzione della valvola infettata, comportando nel complesso un'elevata morbilità e mortalità. L'endocardite subacuta, invece, presenta una durata superiore alle sei settimane e si accompagna ad una febbre di lunga durata di origine non definita, sudorazione notturna, calo ponderale e vaghi sintomi come debolezza generalizzata, letargia e mialgie.

L'endocardite infettiva può anche essere raggruppata in tre categorie: endocardite su valvola nativa, che si sviluppa solitamente laddove esiste un danno strutturale su una valvola cardiaca, quale ad esempio la valvulopatia reumatica. Nei pazienti di età superiore ai 60 anni, si verifica su lesioni degenerative come la valvulopatia mitralica calcifica, lesioni indotte da placche ateromatose o trombosi post-infartuale. Una predisposizione al processo infettivo è invece rappresentata dalle cardiomiopatie ostruttive e dalle cardiopatie congenite. Esiste, infine, un altro gruppo di pazienti, suscettibile al processo endocardico, costituito da tossicodipendenti per uso di droghe endovenose e dai soggetti immuno-deficienti con insufficienza renale cronica, epatite cronica, neoplasie pancreatiche, gastriche o polmonari. Endocardite su protesi valvolare, che si verifica nei pazienti che hanno subito

sostituzione valvolare e che può essere precoce o tardiva e causata prevalentemente dallo *S. aureus* (MSSA o MRSA). Endocardite nosocomiale, che colpisce i pazienti ospedalizzati soggetti a procedure invasive, quali il posizionamento di cateteri venosi centrali, dispositivi pacemaker o defibrillatori impiantabili.

Qualsiasi micro-organismo può causare un processo endocardico. Alcuni patogeni mostrano un'aumentata abilità di aderire ai lembi valvolari, innescando in tal modo il processo infettivo. Nella maggioranza dei casi, circa il 70% , la patologia è innescata dagli stafilococchi MSSA o MRSA che risultano responsabili di endocardite in tossico-dipendenti, nell'endocardite precoce su valvola protesica e nei soggetti immunocompromessi, oltre che nelle endocarditi nosocomiali.

Le manifestazioni cliniche della patologia sono estremamente diverse e possono mimare le patologie polmonari, neurologiche, renali e osteo-articolari. L'insorgenza può essere improvvisa o insidiosa e il paziente lamenta malessere, affaticabilità, debolezza, mialgie, artralgie, febbre, sudorazione notturna e anoressia. Le manifestazioni cardiache comprendono un soffio cardiaco, mentre quelle periferiche assumono una notevole varietà di forme: pallore cutaneo, petecchie rilevabili sulla

mucosa congiuntivale, sul palato e sulla mucosa buccale, strie rosse localizzate nel letto ungueale delle dita di mani e piedi e placche maculari alle palme o alla pianta dei piedi.

L'endocardite può mimare qualsiasi disordine sistemico e per questa ragione ed a causa della sua elevata morbilità e mortalità, dovrebbe essere presa in considerazione ogni qualvolta un paziente ad alto rischio presenta febbre non spiegata associata a soffio cardiaco e sintomi generalizzati.

Il principale obiettivo del trattamento sarà poi, quello di eradicare il patogeno responsabile quanto prima possibile in modo da ridurre i rischi di morbilità e mortalità. Questo obiettivo potrà essere raggiunto con un adeguato trattamento antibiotico che inizierà una volta identificato l'agente eziologico.

2.2) MALATTIE BATTERICHE DELLA CUTE

Le infezioni della cute possono procurare solo lievi fastidi o costituire delle vere e proprie emergenze e colpiscono non solo il paziente con comorbidità ma anche i soggetti sani. La flora cutanea normale comprende gli stafilococchi, gli streptococchi, i difteroidi, il propionibacterium e i batteri gram-negativi. E' essenziale essere a conoscenza della flora batterica normale, della loro sensibilità agli antibiotici comuni e della terapia

empirica iniziale. Tradizionalmente il trattamento è empirico e l'antibiogramma è riservato ai casi non responsivi; ma questo atteggiamento sta cambiando perché favorisce l'insorgenza di resistenza antibiotica. Oggi il ceppo resistente più importante è quello dello *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) in ambiente ospedaliero e, ultimamente, dello *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente acquisito in comunità (*community acquired-MRSA*, CA-MRSA). Sta inoltre aumentando la frequenza dello *S. aureus* vancomicina-resistente (VRSA).

2.2.1) ERISIPELA

L'erisipela è una forma di cellulite superficiale che colpisce soprattutto il viso e le gambe. E' un processo infettivo della cute che coinvolge il derma profondo e in parte l'ipoderma, caratterizzato clinicamente da febbre che esordisce in maniera improvvisa e da segni di intensa flogosi locale (eritema ed edema).

L'agente eziologico è nella maggioranza dei casi costituito da *Streptococcus pyogenes* (streptococchi di gruppo A), occasionalmente da streptococchi di gruppo B, C o G e assai di rado da *Staphylococcus aureus*.

La malattia si manifesta attualmente soltanto con casi sporadici a contagiosità molto limitata, mentre in epoca pre-antibiotica erano molto frequenti gli episodi epidemici in comunità e tra soggetti ospedalizzati. Il punto di ingresso del batterio nella pelle può essere rappresentato da una piccola soluzione di continuità della cute, come piccole ferite, graffi, punture di insetto o infezioni micotiche interdigitali che determinano lacerazione della pelle. Raramente la porta di ingresso può essere rappresentata da ferite chirurgiche e ferite ombelicali. Benché possa colpire a qualsiasi età, la malattia è molto più frequente nei soggetti anziani e le sedi più comuni di insorgenza sono gli arti inferiori, gli arti superiori e il volto. Inoltre rappresentano fattori predisponenti alla malattia sia il diabete mellito che l'obesità.

Gli streptococchi, penetrati attraverso la cute, diffondono per via linfatica determinando manifestazioni flogistico-essudative: nel derma si osservano iperemia ed edema con infiltrazione di elementi linfomonocitari o di granulociti neutrofili; non di rado l'epidermide può anche presentare estesi fenomeni necrotici accompagnati dalla formazione di bolle contenenti liquido sieropurulento e talvolta vescicole e lesioni purpuriche, specialmente se sono colpiti gli arti inferiori.

Il periodo di incubazione non supera i 6-7 giorni. La malattia inizia con febbre anche elevata, brividi, cefalea e senso di calore e bruciore locale. Nel giro di poche ore nella sede interessata compare una chiazza eritematosa con superficie liscia leggermente rilevata e margini netti. Nelle regioni in cui la superficie ossea è vicina alla cute il processo determina più facilmente la necrosi dell'epidermide e la formazione delle vescicole; al contrario, nelle regioni dove il tessuto sottocutaneo è spesso, si produce un notevole edema. A livello del volto, l'erisipela si propaga su entrambe le guance ed il naso, accompagnata da edema palpebrale, lesioni bollose diffuse e secrezioni congiuntivali. Se curata tempestivamente, l'erisipela guarisce nel volgere di 8-10 giorni, durante i quali la febbre diminuisce e si riducono gli effetti locali. In rari casi sono possibili complicazioni anche gravi, come la disseminazione per via linfatica ed ematica, l'evoluzione verso la dermo-ipodermite batterica o cellulite (da non confondere con la cellulite di interesse estetico), o molto raramente, la fascite necrotizzante che può essere letale se molto estesa (*flesh-eating bacteria*).

Quando invece le manifestazioni sono semplicemente di tipo eritematoso, il decorso è più rapido e meno insidioso. La terapia sarà basata sull'utilizzo di antibiotici singoli o in

associazione in base alla gravità dell'infezione, le forme più estese dovranno essere trattate in ambiente ospedaliero e il trattamento dovrà essere proseguito fino a completa normalizzazione del quadro clinico. La terapia comincerà con una scelta di antibiotici sistemici su base empirica, tenendo presente le ferite, lo stato immunitario e quello tossico del paziente. Negli individui sani, la malattia localizzata potrà essere trattata con antibiotici orali e con un follow-up ambulatoriale. Nei pazienti immunocompromessi con infezioni più aggressive, sarà necessaria la terapia antibiotica endovenosa accompagnata da incisione e drenaggio, se sono presenti ascessi o tessuti necrotici. La prognosi nella maggioranza dei casi è positiva anche se occorre ricordare che esiste la probabilità di recidiva.

2.2.2) INFEZIONI CUTANEE DA STAFILOCOCCI

Le infezioni cutanee costituiscono le più frequenti manifestazioni morbose determinate dagli stafilococchi. I processi sono generalmente circoscritti e superficiali, ma in alcuni casi può verificarsi un'invasione dei tessuti profondi o una diffusione sistemica con localizzazioni batteriche metastatiche. A tal proposito devono essere ricordate le forme infettive del piede diabetico, le quali, sviluppandosi in un

individuo in parte immunocompromesso, possono approfondirsi e diffondere al tessuto osseo con insorgenza di osteomieliti.

Le infezioni cutanee da stafilococchi sono per lo più da attribuire allo *Staphylococcus aureus* che è un normale componente della flora batterica intestinale e può essere isolato dalla rinofaringe e dalla cute, specie nella zona perineale, nel 30-50 % degli individui. Particolarmente pericolosi per la trasmissione delle infezioni stafilococciche appaiono i portatori nasali che possono diffondere i microrganismi nell'ambiente e contagiare altri soggetti, direttamente o tramite la contaminazione dell'aria e della polvere. Le manifestazioni morbose che ne conseguono sono soprattutto di tipo nosocomiale in quanto nell'ambiente ospedaliero i ceppi acquisiscono notevole virulenza, sia per le terapie antibiotiche che si effettuano, sia per la concentrazione di ospiti vulnerabili. Molto importante dal punto di vista epidemiologico e terapeutico è la capacità dell'agente eziologico di divenire resistente all'agente antimicrobico entro breve tempo dall'introduzione in terapia. Questo impone il ricorso a nuovi antibiotici.

Fattori che favoriscono la comparsa di infezioni cutanee stafilococciche sono costituiti dalle alterazioni locali

provocate da interventi chirurgici, ustioni, traumi, dermatiti esfoliative. Inoltre vi è anche una predisposizione alle infezioni cutanee in tutti quegli ospiti in cui c'è un'alterata funzionalità granulocitaria in particolar modo un'alterata funzionalità dei neutrofili, come è evidente ad esempio nei soggetti affetti da diabete mellito.

L'invasione della cute determina una reazione infiammatoria locale con infiltrazione cellulare; nell'aria centrale predominano i processi di necrosi, mentre in periferia sono presenti elementi che fagocitano i microrganismi. In alcuni casi il processo infettivo può estendersi ai tessuti profondi determinando necrosi cellulare più o meno estesa che può talora diffondere per via ematica: complicazione che diviene assai frequente quando il microrganismo intacca la cute non integra.

Le manifestazioni cliniche più comuni sono rappresentate dal foruncolo, processo suppurativo-necrotico di un follicolo pilifero e dell'annessa ghiandola sebacea; il favo, costituito da più focolai che distribuiti nel derma danno esito a pus; l'idrosadenite che interessa le ghiandole sudoripare e la mastite che interessa le ghiandole mammarie. Questi processi morbosi, localizzati e circoscritti, sono spesso recidivanti e accompagnati solo sporadicamente da febbre ed altri segni di

interessamento generale. Decorso più impegnativo è quello indotto dall'impetigine stafilococcica responsabile di lesioni pustolose che appaiono dapprima nelle zone perinasale e periorale, e poi in altre regioni corporee e con probabilità di diffusione per via ematogena con localizzazioni metastatiche. L'impetigine è una malattia molto conosciuta che colpisce soprattutto i bambini in età scolare e l'elevata frequenza è da attribuire alla facilità di trasmissione. La malattia si sviluppa sulla cute traumatizzata come sulle zone di dermatite da contatto e di eczema. Ambienti caldo-umidi, scarse condizioni igieniche e una vita a stretto contatto con gli altri, aggravano la malattia che può essere classificata come bollosa e non bollosa. La forma non bollosa è quella più comune (~70% dei casi). La forma bollosa colpisce di solito il tronco, i glutei, il perineo e il viso e si ritiene che le bolle siano dovute ad una tossina prodotta da un particolare ceppo di *S. aureus*. Le complicazioni dell'impetigine comprendono la glomerulonefrite, la setticemia, la polmonite, l'artrite settica, l'osteomielite e la fascite necrotizzante. Variante clinica dell'impetigine è poi l'eritema che colpisce i pazienti immunocompromessi con diabete, HIV e stati neutropenici dovuti a chemioterapia antitumorale e altri immunosoppressori. Le lesioni in questo caso sono più

rilevate e dolorose rispetto a quelle provocate dall'impetigine e non rispondono alla terapia locale.

Un'altra grave affezione cutanea è poi la sindrome di Lyell o necrolisi epidermica tossica caratterizzata clinicamente dal distacco di ampie zone epidermiche necrotiche e da sintomi generali, determinata da una tossina che può invadere il torrente circolatorio e provocare un quadro settico. Per il trattamento sarà opportuna una terapia antibiotica per via generale, seguita da prove di sensibilità in vitro; è invece sconsigliato il trattamento topico che può favorire la crescita di ceppi batterici resistenti.

3) DAPTOMICINA

Daptomicina è il capostipite di un nuovo gruppo di composti lipopeptidici ciclici contenente 13 aminoacidi con un nucleo idrofilo e una coda lipofila (Figura 1), ottenuto come prodotto di fermentazione di *Streptomyces roseosporus* (Tally e DeBruin, 2000) che mostra una potente attività battericida per lo più rivolta verso i Gram positivi (Fuchs et al, 2002).

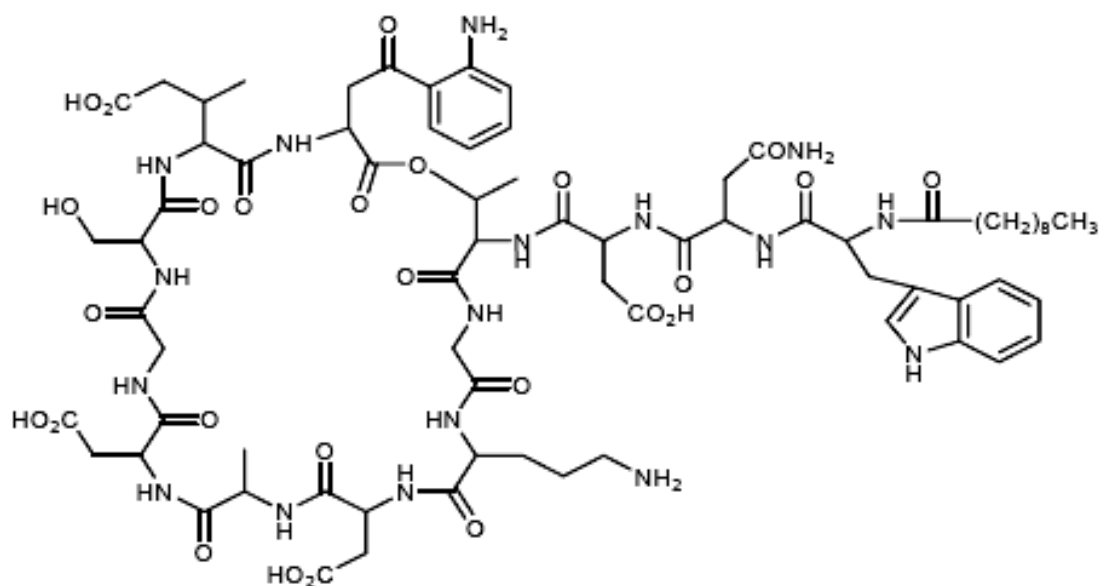


Figura 1 Struttura chimica di daptomicina

Daptomicina è un farmaco dal peso molecolare elevato disponibile esclusivamente per somministrazione intravenosa. Il meccanismo d'azione consiste nel penetrare e distruggere la membrana plasmatica dell'organismo senza entrare nel citoplasma della

cellula. Questo meccanismo calcio-dipendente prevede un legame tra la coda lipofila di daptomicina e la membrana cellulare batterica. Il risultato è la depolarizzazione della membrana, la diminuzione del potenziale, il conseguente aumento della conduttanza al potassio e il blocco della sintesi proteica, di RNA e DNA, che determinano la morte cellulare (Silverman *et al.*, 2003). A conferma dell'attività di daptomicina, alcuni studi dimostrano come la sintesi di acido lipoteico prodotto dalle cellule batteriche viene fortemente inibita dal farmaco che, con tali risultati, può essere somministrato una sola volta al giorno alle dosi di 4-6 mg/Kg di peso corporeo (Canepari *et al.*, 1990).

Daptomicina ha un'emivita di 8 ore (Safdar *et al.*, 2004), e le massime concentrazioni raggiunte nel plasma sono di 77,5 mg/L e nei liquidi infiammatori di 27,6 mg/L, mentre quelle raggiunte in periferia e a livello di un coagulo di sangue sono rispettivamente di 4,8 e 3,5 mg/L (Wise *et al.*, 2002). Daptomicina non supera la barriera ematoencefalica e non penetra nel liquido cerebrospinale di individui sani. Viene poco metabolizzato ed escreto quasi esclusivamente immodificato (~78%), attraverso le urine (Tally e DeBruin, 2000). L'intervallo di dosaggio deve essere modificato nei pazienti con disfunzione renale e con clearance della creatinina <30 ml/min.

3.1) FARMACOLOGIA

Il meccanismo di daptomicina è stato proposto da Silverman e collaboratori come un processo a più fasi (Silverman et al, 2003; Silverman, 2005). Nella prima fase (Figura 2), daptomicina si inserisce nella membrana citoplasmatica del batterio usando un meccanismo calcio-dipendente (Lakey e Ptak, 1988; Canepari et al.,1990).

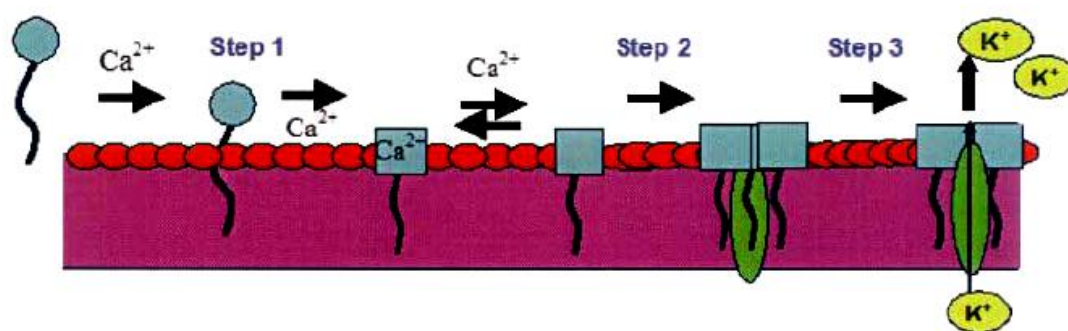


Figura 2 Meccanismo d'azione di daptomicina

Nella seconda fase, gli oligomeri di daptomicina formano canali ionici o micelle (Maget-Dana e Peypoux, 1994; Wu et al.1999) innescando così il rilascio di ioni intracellulari (cioè potassio) e portando a una rapida morte cellulare (fase tre) (Silverman et al, 2003). A causa dell'inserimento nella membrana con un meccanismo calcio-dipendente, la valutazione *in vitro* dell'attività di daptomicina varia a seconda della

concentrazione di calcio nel mezzo di coltura. Confrontando il mezzo standard Mueller-Hinton contenente calcio alla concentrazione di 20-25 mg/L con un mezzo contenente calcio 50 mg/L, la minima concentrazione inibitoria (MIC) è da due a tre volte più bassa in quest'ultimo (Fuchs *et al.*, 2000) (Hanberger *et al.*, 1991). Ne deriva che il test di sensibilità deve avvenire in presenza di livelli fisiologici di ioni calcio liberi (50 mg/L di cloruro di calcio) nel brodo di coltura Mueller-Hinton e un minimo di 28 mg/L di cloruro di calcio nel mezzo agar Mueller-Hinton (Cubist Pharmaceuticals, *data on file*, 2005). Inizialmente Cubist Pharmaceutical forniva un test di sensibilità con il metodo di disco diffusione a 30 µg, da usare per la ricerca durante il periodo successivo all'immissione sul mercato di daptomicina. Tuttavia, nuovi report mai pubblicati, del Center for Disease Control and Prevention e del Clinical Microbiology Institute hanno mostrato che questo disco non è in grado di identificare gli stafilococchi con valori di MIC elevati verso daptomicina. Pertanto il disco è stato ritirato dal commercio, e sta sviluppando un nuovo test di disco diffusione capace di identificare i ceppi resistenti.

3.2) FARMACOCINETICA

I principali parametri farmacocinetici di daptomicina sono stati determinati mediante uno studio clinico di fase I (Dvorchick *et*

al., 2003) coinvolgente 24 soggetti, arruolati per ricevere 4, 6 e 8 mg/Kg di daptomicina, somministrata mediante infusione endovenosa in un periodo di ~ 30 min, ogni 24 h per 7-14 giorni. La farmacocinetica dell'antimicrobico è stata valutata mediante analisi del sangue e delle urine, mentre la sicurezza e la tollerabilità, monitorando gli eventuali effetti avversi e controllando i parametri di laboratorio. I volontari sani di entrambi i sessi (donne non gravide) erano di età compresa tra 21 e 45 anni, con peso corporeo inferiore ai 120 Kg, con funzioni ematiche, epatiche e renali normali e soprattutto con livelli sierici di CPK nella norma. I soggetti non dovevano essere affetti da malattie neurologiche, muscolari, alterazioni del sistema immunitario (ad esclusione di comuni allergie) o anomalie cliniche significative. Ancora, i volontari non dovevano abusare di sostanze stupefacenti o alcool, non dovevano mostrare anomalie elettrocardiografiche e ne' sieropositività per HIV o virus epatitici.

I 24 soggetti scelti con le caratteristiche appena citate, sono stati suddivisi in tre gruppi da 8 individui. All'interno di ogni gruppo, sei soggetti hanno ricevuto daptomicina e due soluzione fisiologica (controllo). Il primo ed il secondo gruppo hanno ricevuto daptomicina 4 o 6 mg/kg/die o fisiologica (controllo) per 7 giorni, mentre il terzo gruppo ha ricevuto

daptomicina 8 mg/kg o controllo per 14 giorni. Il dosaggio di farmaco e la durata della terapia per i soggetti del terzo gruppo sono stati aumentati per avere ulteriori dati sulla sicurezza e la tollerabilità del farmaco. Tutti i soggetti hanno ricevuto daptomicina mediante infusione endovenosa per 30 minuti e sono stati monitorati per i tre giorni successivi all'infusione. Ogni soggetto ha partecipato ad un singolo gruppo ed ha ricevuto un solo regime della dose. La farmacocinetica di daptomicina è stata determinata mediante l'analisi dei livelli di farmaco nel sangue e nei campioni di urina raccolti durante le fasi dello studio, dal primo al settimo giorno per i soggetti del primo e del secondo gruppo e dal primo al quattordicesimo giorno per il terzo gruppo. Ulteriori campioni di sangue sono stati raccolti dopo 24,5 h dall'inizio dell'infusione del secondo e settimo giorno per primo e secondo gruppo e del decimo e quattordicesimo giorno per il terzo gruppo. Anche nei giorni successivi alla terapia sono stati raccolti campioni di sangue e rispettivamente nei giorni ottavo e decimo per primo e secondo gruppo e nei giorni quindicesimo e diciassettesimo per il terzo gruppo. I campioni di siero per la determinazione della quantità di farmaco legato alle proteine, sono stati invece raccolti alla fine dell'infusione, cioè dopo trenta minuti, e a 2,5 e 8,5 h dall'inizio dell'infusione.

Tutti i soggetti hanno terminato lo studio clinico, tranne un volontario appartenente al secondo gruppo, che ha interrotto lo studio quando, dopo aver ricevuto una sola somministrazione di farmaco di controllo, ha avvertito una leggera eruzione cutanea accompagnata da prurito.

Dose	C_{max}	T_{max}	AUC_{0-24h}	T_{1/2}	V	CL_T	Ae₂₄
mg/kg	(mg/l)	(h)	(mg/l/h)	(h)	(l/kg)	(ml/h/kg)	(%)
4	57,8	0,8	494	8,1	0,096	8,3	53,0
(n=6) *	(3,0)	(0,5- 1,0) #	(75)	(1,0)	(0,009)	(1,3)	(10,8)
6	98,6	0,5	747	8,9	0,104	8,1	47,4
(n=6)	(12,0)	(0,5- 1,0)	(91)	(1,3)	(0,013)	(1,0)	(11,5)
8	133,0	0,5	1130	9,0	0,092	7,2	52,1
(n=6)	(13,5)	(0,5- 1,0)	(117)	(1,2)	(0,012)	(0,8)	(5,19)

Tabella 1 Parametri farmacocinetici di daptomicina in volontari sani dopo 7 giorni di somministrazione. Valori espressi come valore medio (deviazione standard)

* numero di soggetti per gruppo; #, range di valori; C_{max}, massima concentrazione plasmatica; T_{max}, tempo a C_{max}; AUC_{0-24h}, area sottesa alla curva concentrazione/tempo da 0 a 24 ore dopo la somministrazione; t_{1/2}, emivita terminale; V, volume di distribuzione; CL_T, clearance sistemica; Ae₂₄, quota di farmaco (percentuale) escreta imm modificata nelle urine in 24 ore.

Daptomicina ha mostrato una cinetica lineare fino alla dose di 6 mg/kg, mentre una leggera deviazione dalla linearità si verifica quando daptomicina viene somministrata alla dose di 8 mg (Tabella 1). Le concentrazioni di daptomicina nel plasma sono risultate costanti e prevedibili. Per tutte e tre le dosi studiate, i valori di concentrazione massima (C_{max}) e di area sottesa alla curva concentrazione/tempo (*area under the time/concentration curve*, AUC) erano del 20% più alte il giorno 7, rispetto al giorno 1, suggerendo che l'emivita calcolata ($t_{1/2}$) pari a 9 h, assieme all'intervallo di dosaggio di 24 h ha permesso un progressivo accumulo. Solo alla dose di 8 mg/kg è risultata una certa non-linearità (~20%) dei parametri, rispetto alle dosi 4 e 6 mg/kg, ma questa non-linearità è stata considerata minore o comunque non clinicamente relativa per quei regimi di dosaggio. Il legame di daptomicina alle proteine plasmatiche è risultato anch'esso costante, in media pari al 92% (Cubist Pharmaceuticals, *data on file*, 2005), con un'eliminazione prevalentemente renale in forma immodificata (Woodworth, *et al.*, 1992). Come conseguenza di queste caratteristiche, il valore di clearance plasmatica risultava basso (~7-9 mg/h/kg) relativamente al flusso sanguigno epatico (~1500 ml/h/Kg) ed alla $t_{1/2}$ relativamente lunga. Anche il volume di distribuzione di daptomicina risulta relativamente piccolo

(~0,1 l/kg) e questo suggerisce che il farmaco rimane soprattutto nel plasma e nel liquido interstiziale.

Questi dati sono in accordo con le osservazioni *in vitro* che dimostrano come daptomicina non penetri la membrana cellulare dei mammiferi. Infatti, il farmaco si distribuisce prevalentemente nel plasma, come evidenziato dal volume di distribuzione relativamente basso, mentre le concentrazioni in altre sedi dell'organismo sono generalmente inferiori rispetto al plasma e variano tra il 2%, rilevato nel liquido di rivestimento epiteliale di topo, ratto e pecora, fino al 72,7% riscontrato nel coagulo ematico/tessuto di ratti e conigli (Steenbergen et al.,2005). La penetrazione nel liquido cerebrospinale nei conigli è stata inferiore al 6%, ma sufficiente per uccidere lo *S.pneumoniae* associato a meningite (Cottagnoud et al.,2004). Si deve notare che la maggior parte di questi studi di diffusione nei tessuti non sono stati condotti nell'uomo. Un unico studio che ha valutato la diffusione di daptomicina nel liquido contenuto nella vescicola ha documentato una penetrazione del 64,8% rispetto al siero (Wise et al.,2002).

Si è ipotizzato inizialmente che la scarsa penetrazione nel liquido di rivestimento epiteliale fosse la causa della minore risposta a daptomicina, in confronto a ceftriaxone, riscontrata

negli studi clinici sulla polmonite acquisita in comunità, condotti in Europa (Alder *et al.*, 2004; Cubicin, *data on file*, 2006). Tuttavia, la discordanza tra questa osservazione e i risultati ottenuti nei modelli animali di polmonite ha portato i ricercatori a valutare l'attività antibiotica in presenza di surfattante polmonare (Silverman *et al.*, 2005). Questo studio ha rilevato che l'attività *in vitro* di daptomicina contro *S. aureus* e *S. pneumoniae* si abbassa da 16 a 32 volte in presenza dell'1% di surfattante polmonare e di oltre 100 volte con il 10% di surfattante, mentre ceftriaxone non è influenzato dalla presenza di surfattante. Il disturbo esercitato dal surfattante polmonare sull'attività di daptomicina sembra correlato all'inserimento calcio-dipendente di daptomicina nella membrana; poiché il 10% di surfattante è costituito da fosfatidilglicerolo, che è anche un costituente della membrana dei batteri Gram-positivi, daptomicina non è in grado di distinguere il surfattante dal target batterico (Silverman *et al.*, 2005). Daptomicina quindi non è indicata per il trattamento della polmonite.

Recentemente è stato riportato l'effetto dell'obesità, definito come indice di massa corporea (BMI), sulla farmacocinetica di daptomicina 4 mg/kg/die (Dvorchik e Damphousse, 2005). Il volume assoluto di distribuzione e la *clearance* plasmatica per daptomicina sono risultati più elevati nei pazienti obesi

rispetto ai corrispondenti controlli non obesi; tuttavia la variazione percentuale dei parametri farmacocinetici al crescere del BMI era maggiore quando i parametri erano espressi in valori assoluti rispetto alla normalizzazione per il peso corporeo totale, suggerendo che gli incrementi della massa corporea sono proporzionalmente maggiori dei corrispondenti incrementi del volume di distribuzione e della *clearance* osservati. Il BMI inoltre non ha influito sull'emivita di daptomicina. In generale, l'esposizione misurata con l'AUC è aumentata di circa il 30% nei pazienti obesi, ma le concentrazioni rientravano abbondantemente nel *range* delle dosi più elevate di daptomicina, considerate sicure. I ricercatori hanno concluso che daptomicina dovrebbe essere dosata in funzione del peso corporeo totale nei pazienti obesi con funzione renale nella norma e che non è necessario alcun aggiustamento del dosaggio esclusivamente sulla base dell'obesità.

Ulteriori conferme sulla potente attività battericida di daptomicina, sono state ottenute dagli studi clinici di fase tre. Negli studi clinici di fase III i ricercatori hanno concentrato le attenzioni verso un'accurata ricerca e comprensione della capacità di daptomicina di raggiungere i siti bersaglio e penetrare nei liquidi infiammatori. Lo studio ha coinvolto sette soggetti volontari maschi in buona salute di età

compresa tra 21 e 28 anni, ai quali è stata somministrata daptomicina alla concentrazione di 4 mg/kg per via endovenosa. Le concentrazioni raggiunte dal farmaco nel plasma e nei liquidi infiammatori sono state successivamente determinate mediante analisi microbiologiche.

Le concentrazioni medie di daptomicina nel plasma e nel liquido infiammatorio a 4 mg/kg ed i parametri farmacocinetici, sono stati ottenuti per sei dei sette volontari, con un volontario che ha interrotto lo studio in seguito ad effetti avversi. Dall'analisi dei dati è possibile notare come il volume di distribuzione, normalizzato al peso corporeo, corrisponda al volume di distribuzione plasmatico, mentre il valore di C_{max} di daptomicina nel plasma è risultata 77,5 mg/l alla conclusione del periodo di infusione. Il valore di emivita terminale era pari a 7,74 h, un valore simile a quello ottenuto in precedenti studi su volontari sani. E' interessante sottolineare che daptomicina si è distribuita con velocità moderata nell'essudato infiammatorio, con concentrazioni medie dopo la prima e la seconda ora rispettivamente di 9,4 e 14,5 mg/l. Il valore medio del tempo necessario per raggiungere le massime concentrazioni (T_{max}) è stato di 3,7 h quando il valore di C_{max} medio nel liquido infiammatorio era pari a 27,6 mg/l. Inoltre, la riduzione dei livelli del farmaco nell'essudato non seguiva quella plasmatica,

dato che è stato calcolato un valore medio di $t_{1/2}$ del farmaco di 17,3 ore, con un'ampia variabilità (da 6 a 32 ore). Infine, determinando il rapporto dei valori di $AUC_{0 \rightarrow 24h}$ del liquido infiammatorio rispetto al plasma è stato possibile confrontare la capacità di penetrazione del farmaco, con un risultato medio di 68,4%. L'eliminazione urinaria di daptomicina è stata pari al $59,7\% \pm 10,2\%$.

Solo due volontari su sette hanno avvertito eventi avversi: nel primo caso, il soggetto ha avvertito a quasi due ore dall'infusione, senso di nausea accompagnato da vomito e diarrea. Il volontario è stato quindi sottoposto a metoclopramide e i sintomi sono scomparsi entro poche ore, ma è stato ritirato dallo studio. Anche il secondo volontario ha avvertito sintomi gastrointestinali ma il trattamento non è stato interrotto. La gravità dei sintomi gastrointestinali osservati nei due volontari detti precedentemente era inattesa e non è stata osservata in altri studi in pazienti o in volontari in buona salute, neanche quando daptomicina è stata somministrata fino a dosi di 8 mg/kg/giorno per 14 giorni. Gli effetti avversi osservati non sono stati quindi ritenuti clinicamente attribuibili all'azione del farmaco (Dvorchik, et al., 2001).

Dagli studi clinici emerge che daptomicina sia caratterizzata da una cinetica lineare fino a dosi di 12 mg/kg/die, poiché l'emivita e la *clearance* di daptomicina (normalizzate rispetto al peso corporeo) allo *steady state* sono simili per tutte le dosi. Nei modelli di farmacocinetica di popolazione, daptomicina è ottimamente descritta da un modello aperto a due compartimenti con eliminazione di primo ordine (Dvorchik *et al.*, 2004).

Daptomicina viene eliminata principalmente per filtrazione glomerulare e la maggior parte del farmaco si ritrova inalterato nell'urina (Dvorchik *et al.*, 2003). Nei volontari sani con funzione renale nella norma, l'emivita di daptomicina è di circa 8 h, giustificando così il dosaggio di 4 mg/kg una volta al giorno. A causa dell'eliminazione renale del farmaco, è necessario aggiustare il dosaggio nei pazienti con disfunzione renale. Infatti, pazienti con *clearance* della creatinina inferiore a 30 ml/min mostrano una media di valori AUC doppia rispetto a quella dei pazienti con normali funzioni renali, per cui la somministrazione avviene ogni 48 h (Dvorchik *et al.*, 2004; Dvorchik *et al.*, 2002). Inoltre, pazienti sottoposti giornalmente ad emodialisi o dialisi peritoneale, e con una *clearance* della creatinina <30ml/min mostrano valori medi di AUC tre volte quelli dei pazienti con funzione renale normale. Daptomicina è rimossa mediante emodialisi; il 15% della dose

somministrata è eliminato in una sessione di 4 ore di emodialisi, mentre l'11% dopo 48 ore di dialisi peritoneale continua (Dvorchik *et al.*, 2004).

In tutti i pazienti con sepsi e insufficienza multiorgano, la EDD (*extended daily dialysis*) rappresenta un'importante terapia extracorporea molto utilizzata nelle unità di terapia intensiva in Europa e negli USA (Filser e Kielstein, 2006), in grado di rimuovere farmaci come levofloxacina, meropenem e vancomicina in modo più efficiente rispetto alla emodialisi standard effettuata tre volte a settimana (Czock *et al.*, 2006; Kielstein *et al.*, 2006).

Dati disponibili sulla farmacocinetica di daptomicina in pazienti sottoposti a dialisi continua, sono stati ottenuti dallo studio clinico effettuato da Burkhardt *et al.* (2005). In tale studio la farmacocinetica di daptomicina è stata determinata su una sola dose di farmaco in un paziente affetto da endocardite infettiva della valvola aortica associata a shock settico ed insufficienza renale acuta. Il paziente, maschio caucasico di 67 anni, con un peso corporeo di 110 Kg e valori sierici di albumina di 21 g/l ha sviluppato insufficienza renale acuta e shock settico nelle ore successive al ricovero. La terapia antibiotica con daptomicina alla dose di 6 mg/kg,

somministrata mediante infusione endovenosa da trenta minuti, assieme a ciprofloxacina e tazobactam, è stata iniziata contro l'eventuale infezione da enterococchi vancomicina-resistenti (VRE) ed MRSA. Dallo studio è emerso che il 15% della dose di farmaco somministrata viene eliminata durante una sessione di 4 ore di emodialisi. Dati ottenuti da modelli *in vitro* dell'emofiltrazione continua e dell'emodialisi (Churchwell et al., 2006), suggeriscono come queste forme di terapia, sono in grado di eliminare una notevole quantità di farmaco e come la EDD sia in grado di eliminare daptomicina in maniera più efficace rispetto alla emodialisi IHD (*standard intermittent haemodialysis*). Pertanto, lo schema di somministrazione ogni 48 ore in pazienti con alterata funzionalità renale potrebbe rivelarsi inefficace in presenza di emofiltrazione o emodialisi, per cui ulteriori studi sono necessari. Infatti, in questi pazienti il volume di distribuzione del farmaco viene alterato e la bassa concentrazione di albumina facilita la rimozione del farmaco.

3.3) TOLLERABILITÀ

Nel corso degli ultimi anni sono stati effettuati numerosi studi il cui l'obiettivo principale è stato quello di stabilire la farmacocinetica e la sicurezza di daptomicina. Gli studi clinici condotti su daptomicina prima del 1999 non hanno stabilito un

regime di dosaggio accettabile, una dose di 3 mg/Kg di peso corporeo ogni 12 h si è mostrata efficace per il trattamento di infezioni moderate della cute, ma meno efficace nella terapia di infezioni più gravi come le endocarditi.

L'incidenza di effetti avversi a dosi di 3 mg/Kg di peso corporeo ogni 12 ore si è dimostrata bassa. Tuttavia negli studi di fase 1, in cui sono state valutate dosi di 4 mg/Kg ogni 12 h (cioè 8 mg di daptomicina al giorno), due soggetti su cinque hanno avvertito effetti avversi a carico della muscolatura scheletrica dopo 7-12 giorni di trattamento. Questa miopatia è stata caratterizzata da elevati livelli di creatina fosfochinasi (CPK) che risultava dieci volte superiore rispetto ai valori normali e a questo è stata associata la debolezza muscolare. Questi effetti sono poi completamente scomparsi a pochi giorni dall'interruzione del trattamento con daptomicina. Successivi studi effettuati nei cani hanno mostrato come l'incidenza di effetti avversi a livello della muscolatura scheletrica fosse connessa alla dose di farmaco somministrata (Oleson et al., 2000). Le dosi sono state quindi frazionate e somministrate una volta al giorno.

In tre soggetti, un controllo e due ricevuti daptomicina, è stato riscontrato un aumento dei valori sierici di CPK, ma tale

aumento non è stato seguito da alcun effetto di debolezza muscolare. Per entrambi i soggetti che avevano ricevuto l'antimicrobico il trattamento non è stato interrotto e i valori di CPK sono rientrati nei limiti normali. Il soggetto con il più elevato valore di CPK (477 IU/L giorno 11), aveva effettuato una intensa attività fisica il giorno precedente e questa è stata valutata come la probabile causa dell'alterazione. Gli aumenti di CPK non sono quindi stati considerati clinicamente significativi (Byrnes, *et al.*, 1985). Solo in quattro volontari, due del gruppo di controllo (33%) e due riceventi daptomicina (11%), gli eventi avversi sono stati ricollegati al trattamento terapeutico. Fra quelli riceventi controllo, è stata segnalata un'eruzione cutanea (giorno 1) ed un episodio di emicrania (giorno 3), mentre entrambi i soggetti riceventi daptomicina 4 mg/kg hanno manifestato insonnia ed elevati livelli di CPK.

3.4) FARMACODINAMICA

Daptomicina mostra un'attività battericida concentrazione-dipendente, ottimamente caratterizzata dal rapporto AUC/MIC (Dandekar *et al.*, 2004; Vance-Bryan *et al.*, 1992). In base a studi sperimentali di infezione murina condotti *in vivo*, il rapporto AUC/MIC del farmaco libero necessario per l'efficacia varia a seconda del patogeno. In uno studio preliminare, condotto utilizzando un modello di topo neutropenico con infezione della

coscia, era necessario un rapporto AUC/MIC di 43,4 e 92,4 per ottenere rispettivamente un effetto batteriostatico e un effetto battericida massimo dell'80% (E_{max}) contro un singolo isolato di *S.aureus* (Louie et al., 2001). Successivamente, Dandekar et al. (2003, 2004) hanno osservato effetti batteriostatici dovuti a daptomicina quando il rapporto AUC/MIC del farmaco libero era pari a 5-13, 10-14 e 12-36 rispettivamente per l'*Enterococcus* spp., lo *S.pneumoniae* e l'MRSA testati. Infine, Safdar et al. (2004), utilizzando ancora il modello neutropenico di infezione alla coscia, hanno trovato effetti batteriostatici per rapporti pari a 75-237 per lo *S. pneumoniae*, 388-537 per lo *S. aureus* e 0,94-1,67 per l'*Enterococcus faecium*. Questi valori, se corretti sulla base del legame proteico nel siero di topo (~ il 92,5%), concordano bene con quelli riscontrati in studi precedenti.

Osservazioni simili sono state fatte con studi di farmacodinamica *in vitro*, dove un range di rapporti del farmaco libero AUC/MIC (16,5-189) era associato all'effetto massimo dell'80% per varie specie di *Staphylococcus* ed *Enterococcus* (Cha et al, 2003). Tuttavia, in generale, sono necessarie esposizioni con AUC/MIC inferiori per raggiungere effetti batteriostatici o massimi dell'80% sugli enterococchi rispetto agli stafilococchi. Rybak et al. (2001) hanno usato un valore target di 189

estrapolato dai loro studi *in vitro*, applicandolo ad un modello di simulazione Monte Carlo per predire la probabilità che i regimi posologici di daptomicina conseguissero tali esposizioni nella clinica. Le probabilità di raggiungere il valore 189 per dosi di daptomicina pari a 4,6 e 8 mg/kg ogni 24 ore erano 80,4%, 91,1% e 95,6% rispettivamente, a ulteriore sostegno della somministrazione monogiornaliera di questo antibiotico contro lo *S. aureus* (Rybak et al, 2001).

Come già detto, il legame di daptomicina con le proteine risulta elevato (90-94%) quando viene analizzato mediante ultrafiltrazione nell'uomo (Dvorchik et al.,2003; Wise et al.,2002; Lee et al., 1991). Tuttavia, la rilevanza clinica di questo elevato legame con le proteine è stata oggetto di discussione. In uno studio *in vitro* con *S.aureus*, Garrison et al. (1990) hanno scoperto che i tassi battericidi di daptomicina erano significativamente ridotti dopo l'aggiunta di albumina e che tale influenza era maggiore sul basso dosaggio (2 mg/kg) rispetto a quello alto (6 mg/kg). I tempi medi necessari per un effetto battericida del 99% cambiava notevolmente da 0,81 a 7,66 ore in presenza di albumina con il basso dosaggio, ma solo da 0,33 a 0,95 ore con l'alto dosaggio. Craig et al. (2004) hanno valutato l'attività antimicrobica di daptomicina confrontando i valori aritmetici di MIC di daptomicina e ceftriaxone in

presenza del 95% di siero e del 5% di albumina contro lo *S. aureus*, *Escherichia faecalis* e *S. pneumoniae*. L'entità stimata del legame con le proteine basata sull'aumento dei valori di MIC era pari al 48,2-81,1% per daptomicina e al 93% per ceftriaxone. Questi studi suggeriscono che l'attività di daptomicina derivante dalla concentrazione di farmaco libero sia da due a tre volte maggiore del previsto, e questa ipotesi è sostenuta dai risultati di uno studio di farmacodinamica *in vitro* nel quale daptomicina 6 mg/kg/die è stata testata nel brodo di coltura non arricchito (concentrazioni libere) e nel brodo arricchito con albumina umana (concentrazioni totali) contro isolati di MRSA e VRE (Cha e Rybak, 2004). Per i ceppi isolati di MRSA, il 99,9% dell'attività battericida avveniva a 0,5 ore nel brodo non arricchito e a 8 ore nel brodo arricchito con albumina. Tuttavia, non sono state riscontrate differenze significative tra i due mezzi di coltura nell'attività battericida a 24 o 48 ore. Quindi, l'efficacia battericida di daptomicina non è significativamente differente tra le due matrici, nonostante l'attività venga ritardata dalla presenza di albumina.

3.5) SPETTRO ANTIMICROBICO

Daptomicina possiede una potente attività *in vitro* contro un ampio spettro di organismi Gram-positivi aerobi e anaerobi, che

includono MRSA, *S.aureus* meticillino-sensibile (MSSA), *S.aureus* vancomicino-intermedio (VISA), *Staphylococcus* spp. coagulasi-negativo meticillino-resistente (CoNS) e VRE (Rybak *et al.*, 2000; Snyderman *et al.* 2000; Fuchs *et al.*, 2001; King e Phillips, 2001; Wise *et al.*, 2001).

3.5.1) ATTIVITÀ CONTRO GLI STAFILOCOCCI

Daptomicina è molto attiva contro gli stafilococchi e la resistenza, sulla base del *breakpoint* di sensibilità della FDA (≥ 1 µg/ml), è attualmente rara (Cubist Pharmaceuticals, 2005). Tutti i 1863 ceppi di *S. aureus* raccolti negli Stati Uniti nel 2003, indipendentemente dalla loro sensibilità a oxacillina, sono stati definiti sensibili a daptomicina (MIC₉₀, 0.5 µg/ml) (Sader *et al.*, 2005). Daptomicina era il farmaco più potente, specificatamente contro gli MRSA, seguito da quinupristin/dalfopristin. Durante gli studi condotti in tutto il mondo, solo due isolati di *S.aureus* e due di CoNS sono stati considerati non sensibili (MIC 2 µg/ml), indicando così una sensibilità del 99,9% per daptomicina (Streit *et al.*, 2004).

Solo vancomicina e linezolid hanno raggiunto il 100% di sensibilità contro i 3202 ceppi di *S.aureus*; tuttavia daptomicina era in media da due a quattro volte più attiva. Nonostante non siano ancora stati stabiliti i *breakpoints* di sensibilità per i CoNS, un'osservazione simile è stata riportata

in merito alla potenza e al *range* di sensibilità (espresso come valore di MIC).

Con l'insorgenza recente dell'MRSA acquisito in comunità, è cresciuto l'interesse verso l'attività di daptomicina contro questi ceppi. In uno studio recente, Tsuji *et al.* (2005), hanno testato *in vitro* l'attività di daptomicina e dei farmaci di confronto su isolati di MRSA provenienti da comunità (*community associated, CA*) e dall'ambiente ospedaliero (*hospital associate, HA*). Il rapporto MIC₅₀/minima concentrazione battericida (MBC)₅₀ di CA-MRSA (0,25/0,25 µg/ml) era simile al rapporto di HA-MRSA (0,5/0,5 µg/ml). Esperimenti sull'attività battericida nel tempo hanno mostrato che daptomicina è più attiva di vancomicina, teicoplanina e linezolid contro CA-MRSA e HA-MRSA. Infine, daptomicina ha raggiunto un'attività battericida entro due ore nei confronti di tutti i ceppi, convalidando così il suo ruolo nel trattamento delle infezioni della cute e dei tessuti molli causate da questi patogeni emergenti.

Daptomicina sembra essere attiva anche contro alcuni VISA e *S.aureus* eterogeneo vancomicino-intermedio (hVISA). Una recente indagine sull'attività di daptomicina contro 25 stafilococchi vancomicino-intermedi, tra cui *S.aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus haemolyticus*, e 22 isolati di

stafilococchi eterogenei vancomicino-intermedi, ha indicato che daptomicina possiede un'attività eccellente (MIC₅₀, 0,5 µg/ml, MIC₉₀, 1 µg/ml; range 0,006-2,0 µg/ml, per tutti gli isolati) (Laplanche e Rybak , 2004). La MBC di daptomicina era compresa tra 0,25 µg/ml e 2,0 µg/ml, e il rapporto MIC/MBC era costantemente ≤ 2 , ad indicare che daptomicina possiede una potente attività battericida contro questi ceppi vancomicino-intermedi ed eteroresistenti. Questi dati concordano con quelli di studi precedenti, effettuati dallo stesso gruppo, che dimostrano un'attività *in vitro* contro ceppi VISA, ma che sono stati in gran parte condotti utilizzando i medesimi ceppi (Rybak *et al.*, 2000; Akins e Rybak, 2000). Al contrario, uno studio separato con 55 hVISA ha dimostrato i valori di MIC per daptomicina leggermente più elevati di quelli riportati in precedenza; le MIC₅₀ e MIC₉₀ per daptomicina erano rispettivamente 2 e 4 µg/ml (range 1-4 µg/ml) (Wootton *et al.*, 2005). Questa osservazione è supportata da uno studio pubblicato di recente che ipotizza che una precedente esposizione a vancomicina, responsabile dello sviluppo di hVISA o di VISA, sia associata allo sviluppo di una etero resistenza a daptomicina (Sakoulas *et al.*, 2006). Questi ricercatori hanno analizzato gli isolati provenienti da quattro pazienti, che avevano sviluppato hVISA o VISA mentre erano in terapia con vancomicina per

un'infezione da MRSA, come pure vari ceppi da laboratorio di MRSA, hVISA e VISA. Un aumento nella MIC di vancomicina si è associato ad un piccolo aumento della MIC di daptomicina in tre dei quattro isolati clinici. L'analisi della popolazione ha confermato la presenza di colonie etero resistenti a daptomicina in questi isolati. Il significato clinico di questa osservazione non è chiaro, considerando che l'attività battericida di daptomicina, testata con l'analisi del *time kill* contro due di questi isolati etero resistenti, è stata mantenuta (Sakoulas et al., 2006). Alcuni ricercatori sostengono che una parete cellulare più spessa nei ceppi VISA e hVISA possa rappresentare una barriera fisica per daptomicina, molecola relativamente grossa che non riesce così ad arrivare ai principali siti di legame presenti sulla membrana batterica, contribuendo in tal modo alla resistenza dello *S. aureus*. Queste osservazioni sono derivate da uno studio in cui lo spessore della parete cellulare correlava in modo lineare con l'incremento della MIC, sia per vancomicina che per daptomicina (Cui et al., 2006).

Il primo isolato VRSA riportato negli Stati Uniti è stato testato *in vitro* contro daptomicina in uno studio di farmacodinamica in cui è stato utilizzato un modello che simulava le vegetazioni endocardiche; la MIC di daptomicina era

0,25 µg/ml e l'attività battericida è stata raggiunta entro 24 ore dalla somministrazione di daptomicina (Cha et al., 2003).

3.5.2) ATTIVITÀ CONTRO GLI ENTEROCOCCHI, STREPTOCOCCHI ED ALTRI CEPPI

Secondo i dati di sensibilità riguardanti 6737 ceppi in tutto il mondo (Streit et al., 2004), daptomicina è risultata altamente attiva contro *E.faecalis* (MIC₅₀, 1 µg/ml; MIC₉₀, 1 µg/ml), indipendentemente dalla sua sensibilità a vancomicina.

Tra daptomicina, vancomicina, teicoplanina, linezolid, quinupristin/dalfopristin e levofloxacin, solo daptomicina è stata in grado di inibire tutti gli isolati di *E.faecalis* alla concentrazione *breakpoint* di sensibilità (≤ 4 µg/ml) (Cubist Pharmaceuticals, 2005), (Streit et al., 2004), (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006) e tutti gli *E.faecalis* vancomicino-resistenti alla concentrazione ≤ 1 µg/ml (Streit et al., 2004). Contro 152 isolati di *E. faecium*, di cui il 34,2% era VRE, daptomicina ha mostrato un'attività (90% degli isolati erano inibiti a ≤ 4 µg/ml) paragonabile a quella di linezolid (MIC₉₀, 2 µg/ml) e quinupristin/dalfopristin (MIC₉₀, 2 µg/ml) (Streit et al., 2004).

Daptomicina ha dimostrato un'eccellente attività contro gli streptococchi β -emolitici di gruppo A (MIC₅₀ e MIC₉₀ $\leq 0,06$ µg/ml) e gli streptococchi β -emolitici di gruppo B (MIC₅₀ e MIC₉₀ $\leq 0,25$

µg/ml) (Sader et al., 2003; Streit et al., 2004). Nonostante non sia stato definito alcun *breakpoint* di sensibilità di daptomicina contro gli streptococchi del gruppo *viridans*, lo *S. pneumoniae* e lo *S.bovis*, anche le MIC₉₀ contro questi batteri sono risultate molto basse, rispettivamente 0,5 µg/ml, ≤0,25 µg/ml e ≤0,012 µg/ml (Streit et al., 2004).

Daptomicina ha mostrato un'attività *in vitro* anche contro altri Gram-positivi, come *Corynebacterium* spp., *Eubacterium limosum*, il gruppo *Eubacterium*, *Peptostreptococcus aerobius* e *Peptoniphilus asaccharolyticus*. Questi organismi avevano valori molto bassi di MIC per daptomicina. Al contrario gli isolati delle specie *Bacillus* (MIC₉₀, 2 µg/ml) e *Listeria* (MIC₉₀, 2 µg/ml), e il *Clostridium difficile* (MIC₉₀, 2 µg/ml) avevano valori di MIC più elevati (Sader et al., 2003; Goldstein et al., 2005).

Non ci sono ancora dati clinici sufficienti sull'uso di daptomicina contro questi Gram-positivi anaerobi.

3.6) SINERGIA CON ALTRI FARMACI

Il nuovo meccanismo d'azione di daptomicina ha incoraggiato la ricerca verso studi volti al miglioramento delle terapie antibiotiche e soprattutto alla possibilità di utilizzare più

farmaci in combinazione, allo scopo di ridurre lo sviluppo dei fenomeni di resistenza.

La possibile sinergia tra daptomicina e altri antibiotici contro lo *Staphylococcus aureus* o l'*Enterococcus* spp. è stata valutata in molti studi *in vitro*. Rifampicina sembra avere un effetto sinergico con daptomicina contro 21 dei 24 isolati di enterococchi vancomicina-resistenti (VRE), resistenti a linezolid, secondo il test epsilometrico (E-test), e questo effetto sinergico è stato confermato in 18 dei 21 isolati mediante l'analisi dell'attività battericida nel tempo (*time kill*) (Pankey et al., 2005). In un altro studio, daptomicina ha ridotto la MIC di rifampicina da >12 µg/ml a 0,22±0,21 µg/ml a una concentrazione di 0,25 x MIC contro il 73% di VRE resistenti a rifampicina (Rand e Houck, 2004). La terapia combinata con daptomicina e un aminoglicoside contro *Enterococcus* spp. è stata attivamente valutata, ma la presenza di una sinergia è ancora controversa. Leclercq et al (1991) hanno riportato una riduzione di circa 2 unità logaritmiche nella carica batterica con la combinazione di concentrazioni continue di daptomicina (10 µg/ml) e gentamicina (7 µg/ml) confrontata con daptomicina da sola contro 11 ceppi *wild-type* di *E.faecium*. Il regime di daptomicina, comunque, manteneva l'attività battericida anche senza l'aggiunta di gentamicina secondo le curve di *time kill*.

La sinergia è stata suggerita anche in un altro studio quando sono state analizzate basse concentrazioni di questi due farmaci contro enterococchi provenienti da casi clinici di batteriemia (Watanakunakorn, 1987). Al contrario non è stato osservato alcun effetto sinergico contro stafilococchi ed enterococchi della combinazione di dosi più basse di daptomicina (1 mg/Kg o 2 mg/Kg) con amicacina (Van Der Auwera, 1989).

L'assenza di sinergia della combinazione daptomicina più un aminoglicoside è stata riportata anche contro lo *S. aureus*. In uno studio di farmacodinamica *in vitro* che simulava le vegetazioni in corso di endocardite, non è stata osservata alcuna differenza di attività battericida tra daptomicina da sola (6 mg/Kg/die) e in combinazione con gentamicina contro MSSA e MRSA (Tsuji e Rybak, 2005). E' stata valutata la sinergia tra daptomicina e oxacillina nei confronti di 18 ceppi di MRSA, sensibili a daptomicina (Rand e Houck, 2004). La sinergia è stata osservata per tutti e 18 i ceppi con daptomicina a 0,5 x MIC in combinazione con 32 µg/ml di oxacillina, e per 11 su 18 ceppi con daptomicina a 0,25 x MIC in combinazione con oxacillina (Rand e Houck, 2004). Nel 2005, un caso refrattario di batteriemia da MRSA, trattato con daptomicina e oxacillina dopo che era fallita la terapia con vancomicina, gentamicina e rifampicina, ha avuto esito positivo. Il soggetto, un uomo di 64

anni con patologia renale in fase terminale in emodialisi, con diabete e osteomielite alla gamba destra di cui ha subito amputazione all'altezza del ginocchio, è giunto al pronto soccorso con febbre persistente da due giorni. Al momento del ricovero, la temperatura del paziente era di 38,5 °C. Gli esami effettuati hanno rivelato un catetere vascolare a livello della succlavia di destra, pulito e asciutto e una lacerazione di 6 cm a livello dell'amputazione. Il paziente è stato quindi tempestivamente sottoposto a terapia antibiotica empirica con vancomicina per via endovenosa, piperacillina e tazobactam. Le colture al momento del ricovero e quelle successive hanno rivelato infezione da MRSA. Malgrado l'uso di vancomicina, durante i sei giorni successivi, le colture hanno continuato a sviluppare MRSA. Il nono giorno di ricovero, alla terapia è stata aggiunta gentamicina per via parenterale e il dodicesimo giorno è stata iniziata la terapia con rifampicina . Le colture effettuate il giorno 14 di ricovero hanno dato esito negativo all'MRSA e così anche nei successivi giorni 16, 17 e 18. Le colture del giorno 19 hanno però nuovamente sviluppato MRSA e la loro positività è continuata anche il giorno 20. Cosicché, la terapia vancomicina-gentamicina-rifampicina è stata interrotta ed è stata iniziata la terapia con daptomicina alla dose di 4 mg/Kg per via parenterale ogni 48 ore associata ad 1g di

oxacillina somministrata ogni 4 ore. Il giorno 22 il paziente ha mostrato insufficienza respiratoria e polmonite, presumibilmente legate alla somministrazione di oxacillina che è stata quindi sostituita da piperacillina associata a tazobactam. Le colture quotidiane hanno continuato a sviluppare MRSA i giorni 23, 25 e 27. Tuttavia il giorno 28, nono giorno di terapia con daptomicina, la batteriemia da MRSA è cessata. Le colture hanno continuato a dare esito negativo fino al giorno 50. I risultati positivi ottenuti hanno fatto ben sperare nel possibile sinergismo di daptomicina associata ad un agente della penicillina anche se è difficile stabilire che non ci sarebbe stato beneficio anche con la sola daptomicina (Scheetz *et al.*, 2005).

3.7) RESISTENZA

Nonostante non sia stato ancora chiarito il meccanismo, la resistenza spontanea a daptomicina si è verificata ed è stata studiata da diversi ricercatori (Liebowitz *et al.*, 1988), (Silverman *et al.*, 2001). Secondo gli studi effettuati da Liebowitz *et al.* (1988), che hanno testato *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. aureus* e *S. pneumoniae*, massima resistenza a daptomicina si verifica nei ceppi di *S. pneumoniae*, mentre la resistenza è minima per *S. aureus*. Al contrario, gli studi

condotti da che hanno testato gli organismi sopradetti e anche lo *S. epidermidis*, non hanno portato ad alcun mutante resistente. Ad oggi non sono ancora stati definiti i *breakpoints* di resistenza per daptomicina, perciò quando si parla di resistenza al farmaco ci si riferisce per lo più ad isolati batterici "non sensibili" a daptomicina. Dal primo isolato clinico segnalato durante gli studi clinici di fase II nel trattamento di endocardite (Lee et al., 1991), sono stati segnalati sei nuovi casi di resistenza all'antibiotico, di cui quattro segnalati tra ceppi di enterococchi e stafilococchi nel 2005 e due segnalati nel 2006 di stafilococchi. In tutti e sei i casi, i pazienti erano immunocompromessi e in terapia a lungo termine con, daptomicina (Lewis et al., 2005; Vikram et al., 2005). In due pazienti neutropenici, sono stati segnalati ceppi *E. faecium* vancomicino-resistenti che diventavano resistenti a daptomicina dopo 17 giorni di terapia, la MIC di questi ceppi risultava superiore a 32 µg/ml, (Lewis et al., 2005; Long et al., 2005).

Nel 2005 sono stati riportati due casi di MRSA che hanno sviluppato resistenza a daptomicina. Nel primo caso, un paziente affetto da fibrosi polmonare sottoposto a terapia corticosteroidica intermittente, è stato trattato per osteomielite vertebrale con daptomicina 6 mg/Kg. A quattro

settimane dal trattamento con l'antibiotico, l'emocultura è risultata positiva ad MRSA e i valori di MIC sono notevolmente aumentati, passando da 0.5 µg/ml, prima della terapia con daptomicina, a 4.0 µg/ml a quattro settimane dall'inizio della terapia antibiotica (Vikram et al., 2005).

Nel secondo caso, un paziente affetto da cirrosi all'ultimo stadio, ha sviluppato una batteriemia complicata e un trombo non occlusivo (Mangili et al., 2005). Il paziente è stato iniziato con vancomicina, ma la terapia non ha avuto buon esito ed è quindi stato sottoposto a terapia con daptomicina alla dose di 6 mg/Kg al giorno; dopo 27 giorni di terapia con daptomicina, un prelievo ematico ha evidenziato un ceppo di MRSA daptomicina-resistente con MIC pari a 2 µg/ml. L'isolato di MRSA daptomicina-resistente sottoposto più tardi a studi sull'attività battericida nel tempo ha dato come risultato un'attività battericida di daptomicina a 8 µg/ml e perciò a 1,2 e 4 µg/ml, daptomicina ha mostrato solo attività batteriostatica.

Ancora, due nuovi casi di MRSA daptomicino-resistenti sono stati segnalati nel 2006, in entrambi i casi, i pazienti erano immunocompromessi e trattati inizialmente per batteriemia (Marty

et al., 2006; Hirschwerk et al., 2006). In entrambi i casi si è verificato fallimento terapeutico.

Infine, nello studio clinico di fase III riguardante l'alto dosaggio di daptomicina per il trattamento della batteriemia complicata e dell'endocardite, sei isolati hanno dimostrato valori di MIC ad un livello più alto rispetto al *breakpoint* di sensibilità, dopo trattamenti prolungati. Lo studio ha coinvolto 246 pazienti con batteriemia da *S. aureus*, con o senza endocardite di cui 124 hanno ricevuto 6 mg/Kg die di daptomicina e 122 terapia standard (gentamicina-vancomicina). La terapia si è conclusa dopo 42 giorni dando per daptomicina il 44,2% di esiti positivi contro il 41,7% della terapia standard, rispettivamente 53 pazienti su 120 e 48 su 115. Gli indici di successo sono risultati simili anche nei sottogruppi di pazienti affetti da endocardite e batteriemia da MRSA. In entrambe le terapie si sono verificati casi di fallimento terapeutico e per entrambe le percentuali risultavano simili, tuttavia per motivi differenti. Per daptomicina la percentuale di insuccesso è stata del 15,8%, ed era più frequentemente attribuibile ad infezione persistente o a ricaduta, mentre il grado di fallimento del farmaco di riferimento è stato del 9,6%, e la causa era maggiormente attribuibile agli eventi avversi indotti dai farmaci. I valori di MIC di daptomicina sono notevolmente

aumentati in sette pazienti. In sei di questi pazienti, la MIC è passata da 0,25 a 2 µg/ml in cinque isolati e da 0,5 ad 1 µg/ml in un isolato.

Di 120 pazienti trattati con daptomicina, 19 hanno avuto infezioni persistenti o ricadute da *S.aureus*, in sei di questi pazienti il ceppo batterico è divenuto meno sensibile a daptomicina e ha provocato batteriemia complicate. Inoltre, nessuna associazione significativa è stata riscontrata fra i livelli di daptomicina nel plasma e le ricadute. Questo fa presupporre come la prolungata esposizione a daptomicina per il trattamento di infezioni profonde e un ospite immunocompromesso possano essere una perfetta combinazione allo sviluppo di resistenza, come avviene del resto in numerose altre classi di antibiotici (Fowler et al.,2005).

3.8) IMPIEGO CLINICO

Sulla base di studi clinici controllati, daptomicina è indicata per il trattamento di infezioni complicate della cute e dei tessuti molli, causate da ceppi sensibili di microrganismi Gram-positivi: *S. aureus* (compresi i ceppi meticillino-resistenti), *S. pyogens*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* ed *E. faecalis* (solo ceppi vancomicino-sensibili) (Cubist Pharmaceuticals, data on file, 2005). Nel 2005 Cubist Pharmaceuticals, sulla base dei

risultati di un importante studio clinico, ha presentato alla FDA una richiesta di indicazione supplementare per daptomicina, richiedendo l'approvazione per la terapia di endocardite e batteriemia da *S.aureus*.

3.8.1) INFEZIONI COMPLICATE DELLA CUTE E DEI TESSUTI MOLLI

Cubist Pharmaceuticals ha condotto due importanti studi di fase III che hanno coinvolto più di mille pazienti provenienti da Stati Uniti, Sud-Africa, Europa e Australia, tutti con infezioni a carico della cute e dei tessuti molli (Arbeit *et al.*, 2004). Durante lo studio sono state messe a confronto due terapie, l'una con daptomicina a dosi di 4 mg/Kg ogni 24 ore per 7-14 giorni, l'altra utilizzando una penicillina anti-stafilococco semisintetica (cloxacillina, flucloxacillina, nafcillina, oxacillina, 4-12 g al giorno) o vancomicina (1 g ogni 12 ore, per sospetto di MRSA). Tra i 902 pazienti clinicamente valutabili, il gruppo trattato con daptomicina ha raggiunto percentuali di successo paragonabili al farmaco di confronto. Tra i pazienti trattati con successo con daptomicina, il 63% ha richiesto la terapia solo per 4-7 giorni rispetto al 33% dei pazienti trattati con il farmaco di confronto (Arbeit *et al.*, 2004). La patologia di base più comune è risultata essere il diabete e i patogeni sono stati isolati in 365 pazienti.

Nel 74% dei pazienti è stato riscontrato lo *S. aureus* meticillino-resistente e in un altro 19% *Enterococcus* spp, patogeni per cui è stata prescritta daptomicina. Tra i 522 pazienti valutabili per *outcomes* e percentuali di guarigione, miglioramento e fallimento, sono risultate rispettivamente 53%, 43% e 4% per le infezioni complicate della cute e dei tessuti molli, e rispettivamente 67%, 32% e 2% per le infezioni della cute non complicate.

Questi dati dimostrano che daptomicina è efficace nel trattamento delle infezioni della cute e dei tessuti molli un ambito clinico.

3.8.2) BATTERIEMIA ED ENDOCARDITE

Nel 1989 l'uso di daptomicina per il trattamento di batteriemia causata da *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* ha dato esito negativo. Le possibili cause sono da attribuire alle basse dosi di daptomicina utilizzate, solo 2 mg/Kg ogni 24 ore (Garrison *et al.*, 1989). Migliori risultati nel trattamento di batteriemia ed endocardite sono stati documentati dal momento in cui daptomicina è stata utilizzata a dosi più elevate, 6-8 mg/Kg al giorno.

Cunha *et al.* (2005) hanno riportato un caso di endocardite acuta infettiva provocata da MSSA, che persisteva nonostante la

terapia per 4 settimane con cefazolina e guarita dopo il trattamento con daptomicina.

Mohan *et al.* (2005) hanno segnalato un caso di endocardite su protesi valvolare da MRSA con batteriemia persistente, che non rispondeva a terapia con vancomicina durata 9 giorni. Dopo cinque giorni di trattamento con daptomicina, il sangue risultava sterile e il paziente mostrava un miglioramento clinico significativo.

Un altro caso clinico è stato riportato da Shah e Murillo (2005), il paziente, in emodialisi e affetto da endocardite da *Corynebacterium striatum* è stato sottoposto a terapia con daptomicina in associazione a rifampina per sei settimane. A tre mesi dal termine della terapia, non ci sono stati segni di recidiva.

Risultati positivi sull'utilizzo di daptomicina per il trattamento di endocardite e batteriemia sono stati riportati nella banca dati CORE. Di 1160 pazienti trattati, 76 erano affetti da batteriemia non correlata a catetere e 49 da endocardite (26, endocardite sinistra, 11, endocardite destra e 23, sia destra che sinistra), (Sakoulas *et al.*, 2005; Levine e Lamp, 2005). La maggior parte dei pazienti con batteriemia avevano un'infezione da enterococchi (70% VRE), *S. aureus* (85%

MRSA) e stafilococchi coagulasi-negativi. Nell'89% dei pazienti valutabili si è arrivati a successo terapeutico utilizzando dosaggi variabili di daptomicina a 4-6 mg/Kg al giorno. Dei pazienti con endocardite, 29 erano affetti da *S. aureus* e 14 da enterococchi. Il successo clinico con una dose di 5,3 mg/Kg al giorno si è avuto nell'88,6% dei 35 pazienti valutabili e l'efficacia è stata simile tra quelli con endocardite sinistra (89%) ed endocardite destra (86%).

Un ulteriore caso clinico è stato riportato da Alam et al. (2005) che hanno raccolto i dati relativi a 17 pazienti affetti da batteriemia persistente sottoposti a terapia e in seguito trattati con daptomicina alla dose di 6 mg/Kg al giorno. Il trattamento con daptomicina ha portato alla guarigione 15 pazienti su 17. Infine, 18 su 22 (81,8%) pazienti con batteriemia e 6 su 9 (66,7%) con endocardite infettiva sono stati anch'essi trattati con daptomicina alla dose di 6 mg/Kg al giorno e i risultati sono stati positivi (Segreti et al., 2005). In entrambi gli studi i pazienti erano stati sottoposti a trattamento con vancomicina, linezolid, quinupristin/dalfopristin, ma con insuccesso terapeutico.

Uno studio clinico di fase II ha valutato daptomicina ad alte dosi per il trattamento di endocardite infettiva e batteriemie

causate da *S. aureus* (Fowler et al., 2005). I pazienti sono stati sottoposti a terapia con daptomicina alla dose di 6 mg/Kg/die e a terapia di confronto con vancomicina alla dose di 1 g ogni 12 ore per infezioni da MRSA, o penicillina semisintetica alla dose di 2 g ogni 4 ore per quelle da MSSA, per un periodo di trattamento di 2-6 settimane. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con insufficienza renale grave che mostravano una *clearance* della creatinina <30 ml/min o con protesi valvolare.

La popolazione ITT era composta da 235 pazienti mentre la popolazione per protocollo da 139. Nel 23% della popolazione ITT è stata diagnosticata endocardite e nel 51% batteriemia complicata. Rispettivamente, nel 37 e nel 38% dei pazienti trattati con daptomicina e farmaco di confronto, il patogeno responsabile dell'infezione è stato l'MRSA. Le percentuali di sopravvivenza sono risultate buone (85% nel gruppo trattato con daptomicina e 84% in quello trattato con il farmaco di confronto). Dei 53 pazienti della popolazione ITT affetti da endocardite destra il 42% (8 su 19) è giunto a guarigione, rispetto al 43% (8 su 19) di quelli trattati con il farmaco di confronto.

Sono stati inoltre segnalati casi di recidiva di infezione da *S. aureus* in 19 pazienti su 120 trattati con daptomicina e 11 su 115 trattati con il farmaco di confronto.

Il trattamento con daptomicina ha dato esito negativo in 6 pazienti su 19 infetti da isolati che hanno dimostrato un aumento dei valori della MIC durante la terapia. Questo studio dimostra come daptomicina consente risultati clinici equivalenti a quelli delle terapie standard per batteriemie complicate da *S. aureus*.

3.9) TOSSICITÀ

Gli effetti tossici di daptomicina sono stati descritti agli inizi degli studi sul farmaco. Uno studio clinico preliminare aveva evidenziato come due pazienti su cinque che avevano ricevuto daptomicina alla dose di 4 mg/Kg ogni 12 ore avessero manifestato lievi eventi avversi a carico della muscolatura scheletrica con sintomi di dolore muscolare e debolezza. A questi eventi avversi è stato poi associato l'aumento dei livelli sierici di creatina fosfochinasi (CPK) i cui valori risultavano fino a dieci volte superiori ai limiti normali dopo 7-11 giorni di trattamento (Oleson et al., 2000).

Studi condotti successivamente sugli animali hanno rivelato che la miopatia indotta da daptomicina è limitata al muscolo

scheletrico, senza alterazioni patologiche a carico della muscolatura liscia o cardiaca. Questa miopatia è da mettere in relazione con una leggera infiammazione dovuta ad alterazioni degenerative ed è completamente reversibile senza esiti di fibrosi o rabdomiolisi dopo la sospensione della terapia (Oleson *et al.*, 2000).

Oleson *et al.* (2000), hanno condotto due studi sui cani per confrontare la miopatia dopo somministrazione ripetuta di daptomicina ogni 24 ore *versus* ogni 8 ore per 20 giorni. I risultati dimostrano che gli effetti avversi a carico della muscolatura sono correlati maggiormente all'intervallo di somministrazione che non al picco di concentrazione raggiunto o all'AUC. Inoltre la rigenerazione muscolare era ostacolata dalla frequente somministrazione, a dimostrazione che il muscolo è in grado di rigenerarsi in un intervallo di tempo lungo tra una somministrazione e l'altra.

Daptomicina somministrata per un periodo di 14 giorni a volontari adulti alla dose di 12 mg/Kg al giorno non ha provocato alcun evento avverso che potesse essere ricondotto all'uso del farmaco e quindi non clinicamente significativo (Benvenuto *et al.*, 2005).

Durante gli studi clinici di fase III, gli aumenti nei valori di CPK sono stati rari. Mentre negli studi effettuati sulle infezioni complicate della cute e dei tessuti molli, l'aumento dei valori di CPK nei pazienti trattati con daptomicina è stato del 2,8% e dell'1,4 % in quelli trattati con il farmaco di controllo (Arbeit *et al.*, 2004). Il trattamento è stato sospeso a causa degli effetti avversi per entrambe le terapie con la stessa percentuale, 2,8%. Uno dei due pazienti trattati con daptomicina la cui terapia è stata interrotta in seguito all'aumento dei livelli sierici di CPK, aveva subito qualche giorno prima dell'inizio della terapia un intervento chirurgico ed era stato sottoposto a numerose iniezioni intramuscolari. Tutti i sintomi a carico della muscolatura (debolezza e dolore muscolare) si sono risolti nel giro di 72 ore dall'interruzione del farmaco e i livelli di CPK sono rientrati nei valori normali entro due settimane.

Durante gli studi condotti su batteriemia complicata ed endocardite infettiva, gli eventi avversi lievi e/o gravi si sono verificati allo stesso modo in entrambi i gruppi di trattamento (Fowler *et al.*, 2005), anche se l'aumento dei valori di CPK è risultato in percentuale maggiore nei pazienti del gruppo di trattamento con daptomicina rispetto a quelli che hanno ricevuto il farmaco di controllo.

Il trattamento con daptomicina deve essere sospeso nei pazienti che mostrano segni e sintomi inspiegabili di miopatia e aumento dei valori di CPK >1000 U/L o nei pazienti asintomatici con livelli di CPK ≥ 10 ULN.

Altri eventi avversi associati a daptomicina sono rari e comunemente: cefalea, diarrea, nausea e vomito, infezioni fungine, eritema cutaneo, dolore, prurito o arrossamento a livello della sede di infusione, rash, alterazione dei test di funzionalità epatica e insonnia. Tutti questi eventi avversi sono frutto di segnalazione del 6% dei pazienti sottoposti al trattamento con daptomicina durante gli studi clinici sulle infezioni della cute e dei tessuti molli.

Inoltre è da notare che nel 19,8% dei pazienti trattati con daptomicina si è verificato un peggioramento della funzione renale e nel 3,4% insufficienza renale con *clearance* della creatinina <30ml/min.

4) LINEZOLID

Il linezolid (Zyvoxid o Zyvox®) è il primo componente della classe degli oxazolidinoni ad essere stato approvato per l'uso clinico dal Food and Drug Administration statunitense nel 2000 (nel 2001 in Italia).

4.1) STRUTTURA

La sua formula chimica è $C_{16}H_{20}FN_3O_4$ e il peso molecolare 337.35. La caratteristica strutturale è rappresentata dal gruppo N-ariloxazolidinone, indicato in verde nella Fig. 3, da cui il nome della classe. Tale gruppo è essenziale per l'attività del farmaco, come è indispensabile la configurazione sterica del C-5 e il gruppo C-5 acil-amino-metilico; il sostituito fluoro-aromatico non è critico per l'attività, ma aumenta la potenza e migliora la biodisponibilità; il gruppo morfolinico in posizione para aumenta la farmacocinetica e l'idrosolubilità, riducendo gli effetti tossici.

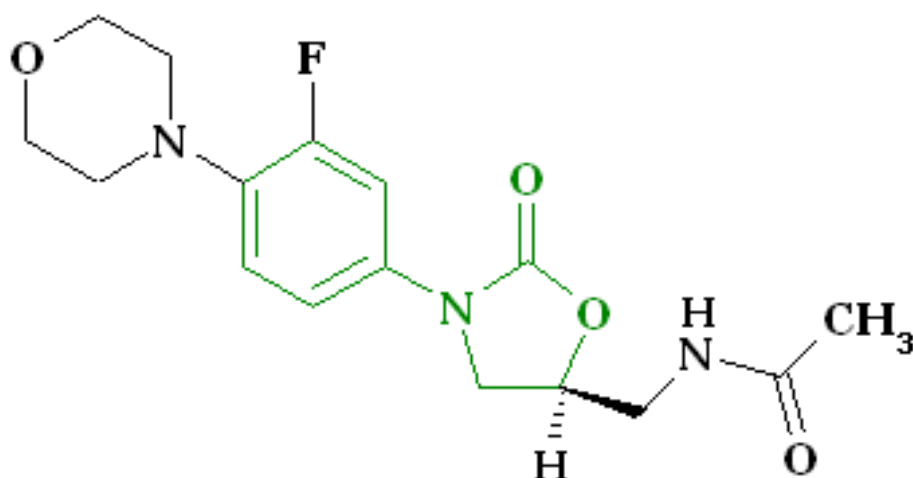


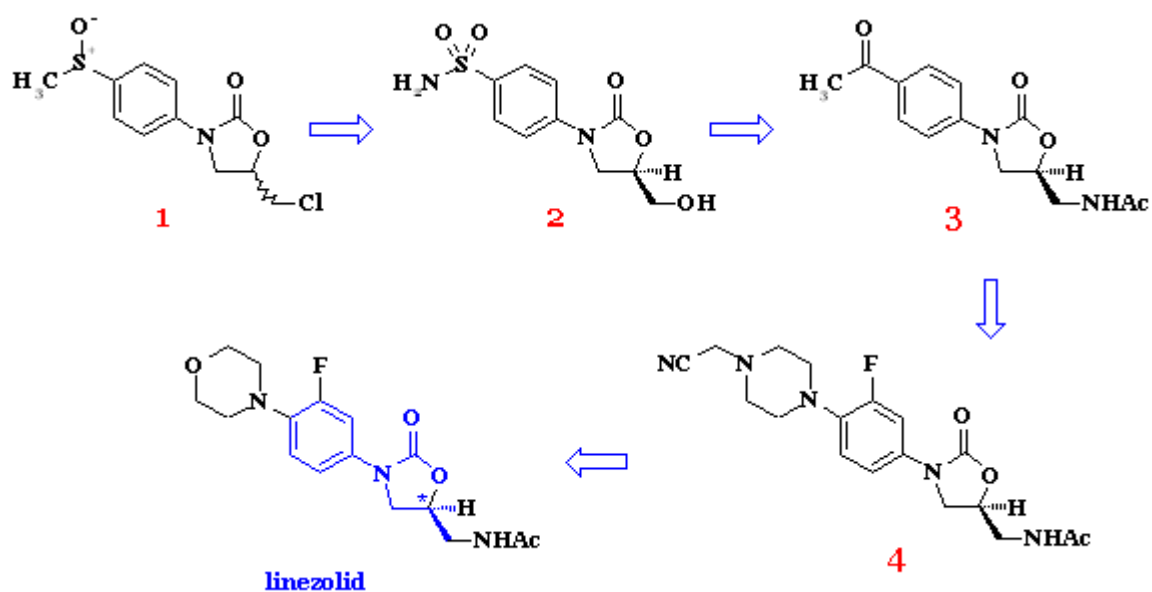
Figura 3 Struttura chimica del linezolid: (S)-N-[[3-(3-fluoro-4-morfolinilfenil)-2-oxo-5-oxazolidinil] metil] acetamide (da Klajn 2005)

4.2) STORIA

La storia del linezolid è il tipico esempio di quanto tempo sia necessario allo sviluppo di nuove molecole efficaci in campo clinico.

Composti, sulfossidi, appartenenti alla classe degli oxazolidinoni erano già noti alla fine del 1970 per la loro utilità nel trattamento di malattie batteriche e fungine di varie piante, solo più tardi venne delineata l'attività antibatterica dei derivati sulfonamidici, attirando l'interesse della DuPont Pharmaceuticals, che iniziò studi volti ad incrementare questa attività in particolare verso streptococchi e stafilococchi, che cominciavano a creare grossi problemi per l'instaurarsi delle resistenze ai glicopeptidi; le prime

molecole però (Dup 721 e 105, Slee 1987; Fig. 1.2, 3), si dimostrarono inadatte allo sviluppo farmaceutico, a causa della loro tossicità e il programma fu abbandonato. Nel 1990 la Upjohn Corporation riprese a considerare questi composti, furono introdotte modifiche strutturali creando analoghi che, pur mantenendo una buona attività antibatterica, neutralizzavano gli effetti tossici. Ulteriori modifiche ad opera della Pharmacia portarono nel 1996 ad altri analoghi, fra i quali, per i primi trials clinici, fu scelto il linezolid, per la sua ottima farmacocinetica. Il farmaco è stato commercializzato dalla ditta Pfizer, che ha assorbito le due case farmaceutiche precedenti.



4.3) FARMACOLOGIA

Meccanismo d'azione

Il meccanismo d'azione degli oxazolidinoni è unico nel suo genere: essi bloccano la sintesi proteica in una fase molto precoce, inibendo la formazione del complesso d'inizio, attraverso il legame reversibile con l'rRNA 23S della subunità ribosomiale 50S (Klajn 2005, Livermore 2003, Hancock 2005); tale legame in qualche modo altera il sito P deputato al legame del peptidil-tRNA sulla subunità 50S e ciò contrasterà l'adattamento del fMet-tRNA al sito e l'ancoraggio delle due subunità durante la formazione del complesso d'inizio, impedendo di fatto la traduzione del mRNA. I primi studi, volti a localizzare il possibile target, si sono avvalsi dell'archeobatterio alofilo *Halobacterium halobium*, che possedendo un'unica copia genica per l'rRNA 23S permetteva di superare l'ostacolo dovuto alla ridondanza degli operoni per gli rRNA; sui suoi mutanti linezolid-resistenti si è arrivati a ipotizzare che il sito legante fosse localizzato nelle immediate vicinanze del centro attivo della peptidil-transferasi, nell'ansa centrale del domain V del rRNA 23S, senza però inibire l'attività dell'enzima stesso (Kloss 1999). Studi recenti, attraverso crosslinking in vivo di molecole di oxazolidinoni con ribosomi di *S. aureus* e ribosomi umani, associati a modeling molecolare, hanno portato ad una più

precisa delucidazione del meccanismo d'azione e del sito di legame: il centro della peptidil-transferasi si conferma come sito principale di azione; il linezolid si lega al ribosoma con il sito P già impegnato, ma, senza apparentemente interagire con la parte peptidilica, va a posizionarsi nello spazio normalmente occupato dal residuo aminoacilico dell'aminoacil-tRNA legato al sito A; in questo modo viene impedito il legame o il posizionamento corretto dell'aminoacil-tRNA nel sito attivo della peptidil-transferasi (Leach 2007).

Il blocco della sintesi proteica in una fase così precoce porta a prevenire la sintesi di vari fattori di virulenza, come coagulasi, emolisine, proteina A, di stafilococchi e streptococchi e a non essere suscettibile di resistenza crociata con altri antibatterici, come cloramfenicolo, macrolidi, lincosamidi, streptogramine e tetracicline che agiscono pure sulla sintesi proteica, ma in una fase più tardiva impedendo l'allungamento della catena peptidica. Di recente è stata rilevata la possibilità di una resistenza crociata con cloramfenicolo e quinopristin-dalfopristin (Besier 2008). Bloccare la sintesi proteica sia a livello di complesso d'inizio 70S, sia a livello di allungamento della catena non è letale per i batteri, infatti il linezolid, come gli altri farmaci sopra descritti, è essenzialmente batteriostatico, solo per la

maggioranza degli streptococchi, fra cui i pneumococchi, risulterebbe battericida (Zurenko 1996).

4.4) FARMACOCINETICA

Gli ossazolidinoni presentano una buona cinetica. Possono essere somministrati per via orale o parenterale.

La dose prevista nella somministrazione per os è di 400 mg ogni 12 ore e 600 mg per le infezioni severe. L'assorbimento è ridotto dalla contemporanea assunzione di cibo. La biodisponibilità è del 100%. La concentrazione massima plasmatica si registra a distanza di 2 ore dalla somministrazione orale. Il legame alle proteine plasmatiche è del 31% ca consentendo così una buona distribuzione nei tessuti.

La metabolizzazione del Linezolid produce composti per ossidazione enzimatica. Il farmaco non induce il citocromo P450. L'eliminazione avviene soprattutto per via renale.

Per le sue caratteristiche farmacocinetiche il Linezolid potrebbe essere somministrato a dosaggio pieno in soggetti con funzionalità epatica e renale compromessa. Rimangono però, forti dubbi sull'utilizzo in pazienti con grave danno epatico e in dialisi. Proprio su tali pazienti sono in corso studi.

Zyvoxid contiene principalmente (S)-linezolid, che è biologicamente attivo e viene metabolizzato a formare derivati inattivi.

4.4.1) ASSORBIMENTO

Il linezolid viene rapidamente e ampiamente assorbito dopo somministrazione orale.

Le concentrazioni plasmatiche massime si raggiungono entro 2 ore dalla somministrazione.

La biodisponibilità assoluta orale del linezolid (in uno studio cross-over con somministrazione orale ed endovenosa) è completa (circa il 100%). L'assorbimento non è significativamente influenzato dal cibo e l'assorbimento della sospensione orale è simile a quello ottenuto con le compresse rivestite con film.

Le C_{max} e C_{min} plasmatiche del linezolid (media e deviazione standard [DS]) allo steady state dopo somministrazione endovenosa di 600 mg due volte al giorno sono risultate essere 15,1 [2,5] mg/l e 3,68 [2,68] mg/l, rispettivamente. In un altro studio con somministrazione orale di 600 mg due volte al giorno, le C_{max} e C_{min} allo steady state sono risultate essere 21,2 [5,8] mg/l, e 6,15 [2,94] mg/l, rispettivamente. Le condizioni di steady state vengono raggiunte entro il secondo giorno di somministrazione.

4.4.2) DISTRIBUZIONE

Il volume di distribuzione in condizioni di steady state è in media di 40-50 litri negli adulti sani e si avvicina all'acqua corporea totale. Il legame con le proteine plasmatiche è circa il 31% e non dipende dalla concentrazione.

Le concentrazioni di linezolid sono state determinate in diversi fluidi, in un numero limitato di soggetti, in alcuni studi su volontari dopo somministrazioni multiple. Il rapporto tra il linezolid contenuto nella saliva e nel sudore rispetto al plasma è risultato rispettivamente 1,2:1,0 e 0,55:1,0.

Il rapporto per il fluido di rivestimento epiteliale e le cellule alveolari del polmone è risultato rispettivamente 4,5:1,0 e 0,15:1,0 quando misurato alla C_{max} in condizioni di steady state. In un piccolo studio su soggetti con shunt ventricolare-peritoneale e meningi essenzialmente non infiammate, il rapporto tra il linezolid contenuto nel liquido cerebrospinale rispetto al plasma, alla C_{max}, è stato 0,7:1,0 dopo somministrazioni multiple.

4.4.3) METABOLISMO

Il linezolid viene principalmente metabolizzato mediante ossidazione dell'anello morfolinico, con formazione prevalentemente di due derivati dell'acido carbossilico ad anello aperto: il metabolita acido aminoetossiacetico (PNU-

142300) e il metabolita idrossietil glicina (PNU-142586). Si ritiene che il metabolita idrossietil glicina (PNU-142586), quello predominante nell'uomo, si formi attraverso un processo non enzimatico. Il metabolita acido aminoetossiacetico (PNU-142300) è meno abbondante. Sono stati caratterizzati anche altri metaboliti minori inattivi.

4.4.4) ELIMINAZIONE

Il linezolid, in condizioni di steady state, viene principalmente escreto nelle urine come PNU-142586 (40%), farmaco invariato (30%) e PNU-142300 (10%) nei pazienti con funzionalità renale normale o insufficienza renale lieve-moderata. Nelle feci non si riscontra virtualmente traccia del farmaco invariato, mentre circa il 6% e 3% di ciascuna dose appare rispettivamente come PNU-142586 e PNU-142300. L'emivita di eliminazione del linezolid è in media di 5-7 ore.

La clearance non-renale rappresenta all'incirca il 65% della clearance totale del linezolid. Con l'incremento della dose di linezolid si osserva un piccolo grado di non-linearità nella clearance. Questo sembra essere dovuto a una minore clearance renale e non-renale a concentrazioni più elevate di linezolid. La differenza di clearance è tuttavia piccola e non è riflessa nella emivita di eliminazione apparente.

4.4.5) POPOLAZIONI PARTICOLARI

Pazienti con insufficienza renale

Dopo singole dosi di 600 mg è stato osservato un incremento di 7-8 volte della esposizione ai due metaboliti primari del linezolid nel plasma di pazienti con insufficienza renale grave (cioè, clearance della creatinina < 30 ml/min). Non è stato tuttavia osservato un incremento della AUC del farmaco invariato. Sebbene si sia rilevata una certa eliminazione dei principali metaboliti del linezolid mediante emodialisi, dopo singole dosi di 600 mg i livelli plasmatici dei metaboliti erano sostanzialmente più elevati dopo dialisi rispetto a quelli osservati in pazienti con funzionalità renale normale o con insufficienza renale lieve o moderata.

In 24 pazienti con insufficienza renale grave, 21 dei quali regolarmente sottoposti a emodialisi, le concentrazioni plasmatiche massime dei due metaboliti primari erano circa 10 volte superiori rispetto a quelle osservate in pazienti con funzionalità renale normale dopo diversi giorni di somministrazione. I livelli plasmatici di picco del linezolid non erano stati influenzati. Il significato clinico di questi riscontri non è stato determinato poiché attualmente sono disponibili limitati dati sulla sicurezza.

Pazienti con insufficienza epatica

Dati limitati indicano che la farmacocinetica di linezolid, PNU-142586 e PNU-142300 non è alterata in pazienti con insufficienza epatica lieve o moderata (cioè classe A o B di Child-Pugh). La farmacocinetica del linezolid non è stata valutata in pazienti con insufficienza epatica grave (cioè classe C di Child-Pugh). Tuttavia, dato che il linezolid viene metabolizzato mediante un processo non enzimatico, una alterazione della funzionalità epatica non deve modificarne significativamente il suo metabolismo.

Bambini ed adolescenti (inferiori a 18 anni)

Non è stata ancora stabilita alcuna raccomandazione sul dosaggio sicuro ed efficace del linezolid nei bambini e negli adolescenti (< 18 anni). Dopo dosi singole e multiple nei bambini e negli adolescenti (da 3 mesi a 17 anni), la clearance del linezolid (basata sui kg di peso corporeo) è risultata maggiore nei pazienti pediatrici che negli adulti, ma è diminuita con l'aumentare dell'età. La somministrazione di 10 mg/kg, due volte al giorno, in bambini di almeno cinque anni ha evidenziato una esposizione equivalente all'incirca a quella ottenuta con 600 mg, due volte al giorno, negli adulti. Non esistono, tuttavia, dati per confermare l'efficacia di questa dose nei bambini.

Pazienti anziani

La farmacocinetica del linezolid non è significativamente alterata in pazienti anziani di 65 anni o più.

Pazienti di sesso femminile

Le donne presentano un volume di distribuzione leggermente inferiore rispetto agli uomini e la clearance media è ridotta di circa il 20% se corretta in base al peso corporeo. Le concentrazioni plasmatiche sono maggiori nelle femmine, e questo può essere parzialmente attribuito a una differenza di peso corporeo. Tuttavia, dato che l'emivita media del linezolid non è significativamente diversa tra maschi e femmine, le concentrazioni plasmatiche nelle femmine non devono sostanzialmente superare quelle ben tollerate e, pertanto, non è richiesta alcuna modifica della dose.

4.5) SPETTRO D'AZIONE

Linezolid è particolarmente attivo contro batteri Gram-positivi, compresi stafilococchi coagulasi-negativi anche meticillino-resistenti, *S. aureus* resistente alla meticillina e resistente o con sensibilità intermedia ai glicopeptidi (GISA), enterococchi anche vancomicinaresistenti, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, streptococchi viridanti e *S. pneumoniae* anche resistenti a penicillina e cefalosporine. Il farmaco è inoltre attivo su

Bacillus spp, *Corynebacterium spp.* e *Listeria monocytogenes*; alcuni anaerobi sono sensibili al linezolid come *Clostridium perfringens* e *C. difficile*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium acnes* e *Fusobacterium*. I Gram negativi sono generalmente resistenti: i loro ribosomi si legano al linezolid, ma la molecola viene riconosciuta ed espulsa dalla cellula tramite pompe di efflusso endogene (Swaney 1998a). *Bacteroides spp.*, *Moraxella catharralis* e *Pasteurella spp.* hanno una sensibilità relativamente ridotta, MIC di 4-8 µg/ml, come *Haemophilus influenzae*, MIC 16 µg/ml.

Linezolid sembra possedere una certa attività contro *Chlamidia* e *Mycoplasma*, anche se sono stati descritti ceppi di *Mycoplasma pneumoniae resistenti*; si dimostrano invece sensibili le varie specie di micobatteri fra cui anche il *M. tuberculosis* multiresistente

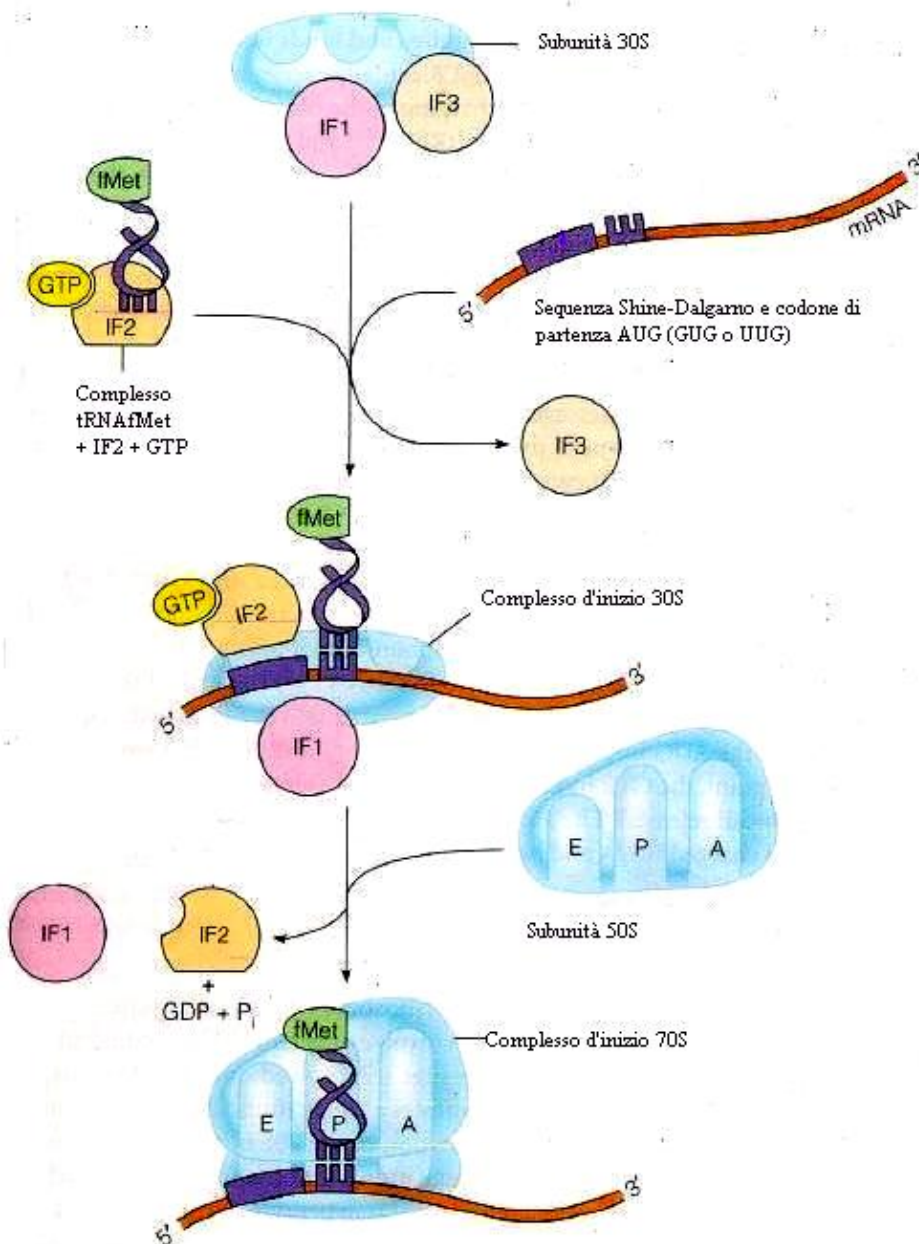


Figura 4 Meccanismo d'azione del linezolid: la molecola si lega alla subunità 50S del ribosoma procariotico impedendo il suo assemblaggio al complesso 30S. In questo modo non si formerà un complesso d'inizio 70S funzionale e la sintesi proteica risulterà bloccata (da bass.bio.uci.edu/.../lecture23/hudel_27_18.jpg, modificata).

4.6) RESISTENZE

Essendo un prodotto di sintesi, non c'è un serbatoio naturale di resistenza; tutti gli altri inibitori della sintesi proteica sono derivati da antibiotici naturali di origine microbica, i cui produttori sono la riserva naturale di geni di resistenza, che poi possono essere acquisiti per trasmissione orizzontale dai ceppi clinici. Studi in vitro, precedenti al brevetto, avevano dimostrato che era difficile selezionare ceppi resistenti al linezolid, probabilmente per una bassa frequenza di mutazione spontanea dell'ordine di 10^{-9} - 10^{-11} (Kaatz 1996, Zurenko 1996) e che era possibile ottenere solo una bassa frequenza di mutanti linezolid-resistenti in *S. aureus* ed *enterococchi* con piastre a gradiente (Zurenko 1996) o attraverso vari passaggi in terreni con concentrazioni crescenti di linezolid (Prystowsky 2001). Con la sperimentazione clinica iniziano a comparire, ma molto sporadicamente, i primi ceppi linezolid-resistenti, dapprima fra gli *enterococchi* (Gonzales 2001), poi rarissimi casi in *S. aureus* (Tsiodras 2001) e successivamente anche in *stafilococchi coagulasi-negativi* (Kelly 2006) e in *S. pneumoniae* (Wolter 2005); non sono stati riportati casi di resistenza in altri streptococchi. I fattori di rischio, che possono essere associati all'isolamento di ceppi resistenti al linezolid, sono comuni all'insorgenza di resistenze verso

altri farmaci: ospedalizzazione prolungata e passaggio in vari reparti, soprattutto rianimazioni e reparti di chirurgia; maggiori terapie antibiotiche cumulative e in particolare uso di carbapenemici o piperacillina-tazobactam e/o cefepime; trattamenti prolungati con linezolid; precedenti infezioni da MRSA, infezioni da VRE in pazienti con malattie vascolari periferiche o in trapiantati e in nutrizione parenterale (Pogue 2007). Le infezioni da MRSA, in particolare, restano fattori importanti anche in assenza di terapia con linezolid (Keiner 2007). La comparsa di mutanti resistenti è proporzionale alla dose di farmaco usata, alla durata della somministrazione (Bourgeois- Nicolaos 2007) e al suo consumo (Scheetz 2008).

Sono state descritte varie mutazioni sito-specifiche, che conferiscono resistenza al linezolid, modificando il sito di legame, sia in vitro che in vivo; tutte si localizzano nella regione, piuttosto conservata e compresa fra i nucleotidi 2042 e 2628 (secondo la numerazione in *E. coli*), della peptidil-transferasi sull'rRNA 23S ad ulteriore conferma del meccanismo di azione della molecola.

In vitro sono state evidenziate varie mutazioni in ceppi *Gram-positivi*: G2576U e G2447U in *S. aureus* (Swaney 1998b); G2505A in *E. faecium* e G2576U, C2512U, G2513U e C2610G in *E. faecalis*

(Prystowsky 2001); G2505A in *E. faecalis* (Lobritz 2003); quest'ultima è stata selezionata anche in vivo in *E. faecalis* colonizzanti topi gnotobiotici trattati con linezolid (Bourgeois-Nicolaos 2007). In ambiente clinico la mutazione di gran lunga predominante è la transversione G2576T nel gene per l'rRNA 23S sia fra gli enterococchi, che in *S. aureus* (Tsiodras 2001, Meka 2004b); solo in *S. aureus* è stata evidenziata un'altra mutazione, T2500A, sempre localizzata nel gene per l'rRNA 23S (Meka 2004b).

Alcune delle mutazioni che conferiscono resistenza in vitro riguardano nucleotidi che interagiscono direttamente con il linezolid, mentre G2576 non è a diretto contatto con il farmaco; è stato dimostrato che però aiuta, attraverso un legame H, a stabilizzare altri due residui che contattano la molecola del farmaco; la transversione G2576U impedisce tale stabilizzazione e i due nucleotidi acquistano molta più flessibilità rendendo difficile il contatto con i tre anelli del linezolid (Leach 2007).

Benchè in vitro si siano dimostrate possibili varie mutazioni, il fatto che in vivo solo una sia stata evidenziata in larga maggioranza porterebbe a supporre che in qualche modo l'ambiente sanitario favorisca la mutazione G2576T.

I geni che codificano per gli rRNA (16S, 23S e 5S) sono organizzati in operoni, che contengono anche i geni per i tRNA, assicurando così la trascrizione coordinata e la produzione di quantità equimolari di ogni prodotto genico; essi differiscono dalla maggior parte degli altri geni cromosomiali dei procarioti perchè sono presenti in copie multiple nel genoma, arrivando fino a 15. Studi sul genoma batterico dei Gram-positivi (Pillai 2002, Marshall 2002, Klappenbach 2001) hanno rilevato che *S. aureus* possiede da 4 a 7 operoni per gli rRNA, di solito 5; *E. faecium* può avere fino a 7 operoni, generalmente 6; *E. faecalis* sempre 4, come *S. pneumoniae*. Vista la variabilità nel numero di copie di rDNA 23S, si potrebbe supporre che lo sviluppo di resistenza, ad alto livello, al linezolid sia più difficile nelle specie dotate di un numero maggiore di copie. In realtà se ciò può essere vero in vitro, dove è stato rilevato che *E. faecalis* sviluppa molto più velocemente, e a livelli maggiori di *E. faecium*, la resistenza al linezolid (Prystowsk y 2001), un riesame dei dati in letteratura riguardanti ceppi clinici ha messo in evidenza che la resistenza si manifesta con più frequenza in *E. faecium*, seguito da *E. faecalis* e a distanza da *S. aureus*.

Potrebbero essere implicati i meccanismi di riparazione del DNA (Martinez 2009), quali i peptidi appartenenti alle famiglie Muts

e MutL; tali peptidi aiutano a ripristinare i nucleotidi corretti, in seguito ad un'introduzione errata durante la replica del DNA e inibiscono la ricombinazione tra sequenze non identiche, mantenendo così la stabilità genomica. Mutazioni nei loci mutS e mutL sono associate a fenotipi ipermutabili in varie specie batteriche e potrebbero essere implicate nell'emergenza dell'antibiotico-resistenza; non è però statodimostrato che mutazioni comportanti variazioni in questi peptidi siano in qualche modo responsabili della resistenza al linezolid in ceppi di *E. faecium* (Willems 2003). È più probabile che la maggior frequenza di ceppi clinici di *E. faecium* linezolid-resistenti sia dovuta alla propagazione della resistenza alla vancomicina, molto più diffusa fra gli *E. faecium*, e al conseguente uso del linezolid per eliminare i VRE.

È stato dimostrato che, mentre la comparsa della mutazione nella prima copia di geni per rRNA 23S è piuttosto lenta, legata alla bassa frequenza di mutazione spontanea, la successiva estensione della mutazione alle altre copie avviene molto più rapidamente (Besier 2008) e ciò potrebbe essere spiegato con un altro meccanismo presente in specie dotate di ridondanza genomica.

Le copie multiple mantengono alta omogeneità attraverso i meccanismi di conversione genica (Hashimoto 2003), cioè

ricombinazione omologa, non reciproca, tra alleli mutanti e wild-type (wt) di un gene. La conversione genica entra in gioco anche nelle resistenze: è stato riportato l'aumento del grado di resistenza agli aminoglicosidi in *Mycobacterium smegmatis* (Prammananan 1999) sotto pressione selettiva in presenza dell'antibiotico, e l'amplificazione della resistenza alla tetraciclina in *E. faecalis* wild-type, annullata nello stesso ceppo RecAprodotto in laboratorio (Yagi 1980); altro esempio è la resistenza ai macrolidi in *S. pneumoniae* (Wolter 2006). Gli alleli wt si convertono in alleli mutati per ricombinazione omologa con alleli che già presentano la mutazione; tale processo è mediato da RecA ed è stato riportato che ceppi RecA- possono acquisire, per mutazione spontanea, in una copia genica di rDNA 23S la transversione G2576T, ma non possono poi trasferire la mutazione alle altre copie (Lobritz 2003). Il processo di conversione genica potrebbe spiegare anche la discordanza nella stabilità della resistenza: resistenza stabile in assenza di antibiotico riscontrata in *S. aureus* (Pillai 2002), dove tutte le 5 copie di rDNA 23S presentavano la mutazione G2576T e resistenza non stabile, con ceppi che da resistenti riacquistavano la sensibilità dopo vari passaggi in terreni senza antibiotico (Meka 2004a), dove solo parte delle copie di rDNA 23S erano mutate. Perché avvenga la conversione è

necessaria la presenza di entrambi gli alleli wt e mutati e quindi solo in questo caso sarà possibile, da un lato il passaggio ad una resistenza più elevata (conversione wt→mutati), in seguito alla pressione selettiva del principio attivo e dall'altro il ritorno alla sensibilità (conversione mutati→wt), dopo sospensione del farmaco (Meka 2004b); se non esistono alleli wt non si potrà tornare al genotipo sensibile. Tale spiegazione non è stata confermata dal lavoro sulla resistenza ai macrolidi in *S. pneumoniae*, dove sembra possibile il ritorno veloce alla sensibilità, in assenza di antibiotico, a partire da ceppi con tutte le copie mutate (Wolter 2006). La discrepanza in questo caso viene spiegata con la possibilità che esista un numero piccolo, non rilevabile, di cellule batteriche nella popolazione dotate di alleli wt.

La presenza di copie multiple di geni per rRNA 23S suggerisce che ci sia una dipendenza diretta fra il numero delle copie che presentano la mutazione e il livello di resistenza e infatti numerosi sono i lavori nei quali viene descritto il rapporto fra il grado di resistenza verso il linezolid, espresso come MIC, e il numero di copie con la mutazione G2576T, sia in isolati clinici che in mutanti selezionati in vitro. In ceppi di *E. faecium* e *E. faecalis* clinici la MIC cresceva da 2 µg/ml in quelli privi di mutazioni a 64 o 256 µg/ml in quelli in cui la

maggior parte o la totalità delle copie presentavano la mutazione (Marshall 2002, Ruggero 2003). Anche ceppi sensibili potevano presentare eterozigosi nella posizione 2576, ciò implica che, perchè ci sia l'espressione fenotipica della resistenza, è necessario che più di una copia di geni presenti la mutazione (Marshall 2002, Bourgeois-Nicolaus 2007); ceppi di *E. faecalis* linezolid-resistenti selezionati in vitro presentavano MIC da 4 a 128 µg/ml con l'estensione della mutazione da 2 alla totalità delle 4 copie di geni per l'rRNA 23S (Lobritz 2003); ancora aumento delle MIC proporzionale all'aumento delle copie mutate è stato descritto, in vivo, in *E. faecalis* isolato da topi gnotobiotici alimentati con differenti dosi di linezolid (Bourgeois- Nicolaus 2007) e in mutanti resistenti, selezionati in vitro, di un ceppo clinico di *S. aureus* (Besier 2008).

I dati reperibili in letteratura per la fitness in caso di resistenza al linezolid sono controversi: in *E. faecalis* si è riportata una dipendenza dal numero di copie mutate dell'rRNA 23S, con un vantaggio se tutte le copie erano mutate e, inspiegabilmente, svantaggio se solo una era portatrice della mutazione (Bourgeois-Nicolaos 2008); invece una correlazione inversa fra numero di copie mutate e velocità di crescita è stata riportata per un ceppo RecA+, mentre per il corrispondente

RecA- i mutanti avevano velocità maggiore del wt (Lobritz 2003); in *S. aureus* un ceppo mutante presentava curve di crescita sovrapponibili ai ceppi privi di mutazione (Pillai 2002), mentre sempre in *S. aureus* l'estensione progressiva della mutazione alle varie copie è stata accompagnata da una diminuzione di fitness (Besier 2008).

Anche i dati riguardanti la stabilità della mutazione, reperibili in letteratura, sono controversi: in un isolato clinico di MRSA resistente al linezolid, per mutazioni coinvolgenti tutte le 5 copie di rRNA 23S, 15 passaggi in terreno privo di antibiotico non erano sufficienti a diminuire la resistenza (Pillai 2002); *E. faecalis* e *E. faecium* vancomicina-resistenti, selezionati per la linezolid-resistenza in vitro, mantenevano la resistenza dopo un mese di coltura in terreno senza antibiotico (Prystowsky 2001); in un isolato clinico di *S. aureus*, con 4 su 5 copie mutate e MIC di 16 µg/ml, 60 passaggi in terreno senza antibiotico determinavano la scomparsa progressiva della mutazione e la diminuzione della MIC da 8 µg/ml, con solo 2 su 5 copie mutate, a 2 µg/ml con 1 su 5 copie mutata, confermando nuovamente il rapporto fra numero di copie mutate e grado di resistenza (Meka 2004a); 50 passaggi in terreno privo di antibiotico di un ceppo di *S. aureus*, linezolid-resistente a causa della mutazione estesa a tutte 5 le

copie di rRNA 23S, hanno provocato la diminuzione della MIC e la scomparsa della mutazione da una delle copie (Besier 2008). Recentemente sono stati scoperti altri due meccanismi di resistenza: uno coinvolge ancora una mutazione, che porta ad una delezione di due aminoacidi nella riboproteina L4 in *Streptococcus pneumoniae* e l'altro, molto più preoccupante perchè trasmissibile, identifica ceppi di *S. aureus* resistenti al linezolid per la presenza del gene cfr. La delezione di 6bp nel gene codificante per la riboproteina L4 in *S. pneumoniae* (Wolter 2005) provoca la modificazione del sito bersaglio di vari antibiotici; la proteina L4 è probabilmente parte integrante del sito legante, la sua modifica, con la delezione di due aminoacidi, provoca la perturbazione della struttura tridimensionale dell'rRNA 23S e di conseguenza viene ad essere modificato il sito legante comune a linezolid, eritromicina, clindamicina e cloramfenicolo, riducendo la sensibilità a questi antibiotici. Questo nuovo meccanismo di ridotta sensibilità apre quadri preoccupanti perchè sono già state riportate mutazioni in L4 che conferiscono resistenza ai macrolidi in *S. aureus* e che potrebbero essere responsabili di ridotta sensibilità al linezolid; la medesima delezione in L4 è stata riportata anche in streptococchi di gruppo A (Bingen 2002).

Resistenze non mutazionali agli oxazolidinoni, dovute ad un gene codificante per una rRNA metiltransferasi (gene *cfr*, identifica la resistenza al cloramfenicolo e florfenicolo), sono state riportate in ceppi di stafilococchi isolati in campo veterinario; il gene *cfr* era localizzato su plasmidi e poteva essere trasferito orizzontalmente ad altri ceppi di stafilococchi. Si ipotizza che l'acquisizione di questo gene possa essere stata indotta dall'uso del florfenicolo della resistenza a linezolid e cloramfenicolo dovuta al *cfr* implicava la metilazione di A2503 nel rRNA 23S, compreso nel sito legante il linezolid. La presenza dello stesso gene *cfr* determinava anche la resistenza al linezolid in MRSA clinici; nei ceppi clinici il gene era localizzato nel cromosoma batterico, probabilmente come parte di un plasmide integrato ma capace di mobilizzazione; in particolare formava un'unità trascrizionale con il gene *erm*(B) denominata operon *mlr* (Toh 2007). Dato che il gene *erm* conferisce resistenza, attraverso un'altra rRNA metilasi, a macrolidi, lincosamidi e streptogramine B, la presenza dell'associazione nell'operon *mlr* (modification of the larger ribosomal subunit) rendeva l'isolato resistente a tutti gli antibiotici il cui target è situato nella subunità ribosomiale 50S. Non è stata individuata la fonte da cui i geni *erm* e *cfr* sono originati, ma è molto probabile che provengano da un

microrganismo produttore di uno degli inibitori naturali delle peptidil-transferasi; non viene esclusa la trasmissione orizzontale da ceppi di enterococco (Toh 2007).

4.7) INFORMAZIONI CLINICHE E TERAPEUTICHE

Il linezolid è disponibile in soluzione iniettabile (2 mg/ml), in compresse (400 o 600 mg) e in granuli per sospensione orale (100 mg/5 ml). La biodisponibilità è ottima, molto vicina al 100%, sia per via parenterale che per via orale, per cui dalla somministrazione endovena si può passare alla formulazione orale, senza necessità di cambiare le dosi, non appena la condizione clinica lo consenta; il paziente, potrà essere dimesso e continuare il trattamento a domicilio, abbreviando così la durata dei ricoveri ospedalieri con molteplici vantaggi, quali un minor pericolo di acquisizione di infezioni ospedaliere e un minor costo per la struttura che potrà bilanciare il costo elevato del farmaco.

Solitamente il farmaco viene somministrato alla dose di 600 mg due volte al giorno; viene assorbito rapidamente e raggiunge il picco massimo di concentrazione dopo 1 o 2 ore, ma un livello plasmatico > 4 mg/L viene mantenuto durante tutto l'intervallo di dosaggio, livello superiore al breakpoint di sensibilità per

le specie batteriche contro cui il linezolid viene usato (Dresser 1998, Zyvox 2005 e Zyvoxid 2007).

Secondo le note informative, diramate dall'agenzia italiana del farmaco e concordate con le autorità regolatorie europee, il Zyvoxid è indicato per il trattamento delle polmoniti acquisite in comunità e per le polmoniti nosocomiali causate da batteri *Gram-positivi*; è indicato anche per le infezioni complicate della cute e dei tessuti molli, solo quando sia accertato che la causa dell'infezione è determinata da batteri *Gram-positivi* sensibili e, qualora esistano confezioni da *Gram-negativi*, deve essere usato solo se non sono disponibili altre alternative terapeutiche e comunque in associazione con un trattamento specifico per i *Gram-negativi* isolati. La sua efficacia nelle endocarditi da MRSA o enterococchi resistenti, dove è richiesta un'elevata attività battericida, è ancora da valutare. Viene sottolineato che il trattamento deve essere iniziato in ambito ospedaliero, dopo un consulto con uno specialista infettivologo o microbiologo, mentre è scoraggiato l'uso empirico proprio per evitare l'insorgere di ceppi resistenti.

Di solito il farmaco è ben tollerato: fra i pochi effetti indesiderati ci sono casi di mielosoppressione con anemia, leucopenia, pancitopenia e soprattutto trombocitopenia, il

rischio però sembra essere legato alla durata del trattamento e comunque i parametri ritornano ai livelli normali con la sospensione del trattamento; la causa di questi effetti collaterali potrebbe ricollegarsi alla capacità del farmaco di legarsi ai ribosomi mitocondriali inibendo la sintesi proteica dei mitocondri, mentre sembra impedito il suo legame ai ribosomi citoplasmatici (Leach 2007). Sono stati anche riportati casi di neuropatia periferica e ottica che può portare a perdita di vista, ma solo in pazienti trattati per un periodo superiore alla durata massima raccomandata che è di 28 giorni. Le reazioni avverse al farmaco più comuni sono cefalea, diarrea, nausea e candidiasi, ma solo nel 3% dei casi si arriva alla sospensione del trattamento.

È un inibitore reversibile e non selettivo delle monoamino-ossidasi e potenzialmente può interagire con agenti adrenergici e serotoninergici.

5) CONCLUSIONI

Sulla base delle informazioni raccolte ed analizzate nonché dei risultati degli studi clinici è dimostrato che linezolid e daptomicina possono essere impiegati nel trattamento di gravi infezioni da batteri Gram positivi resistenti quali MRSA e VRE. L'impiego di questi agenti rimane però gravato da alcuni aspetti ancora non completamente chiariti, quali l'impiego in alcune popolazioni speciali e la possibile insorgenza di ceppi resistenti.

Per quanto riguarda linezolid, i dati di studi clinici pubblicati integralmente sono pochi, ma quelli disponibili indicano che il farmaco è efficace quanto gli antibiotici standard nel trattamento nelle infezioni complicate della cute e dei tessuti molli e della polmonite nosocomiale, anche quando l'infezione è causata da batteri resistenti come MRSA e VRE.

Linezolid ha un'azione batteriostatica piuttosto che non battericida, quindi la sua efficacia nelle endocarditi da MRSA o enterococchi resistenti, dove è richiesta un'attività battericida, è ancora da valutare. Nonostante ciò, l'ottima biodisponibilità sia per via parenterale che per via orale fa sì che si possa passare dalla somministrazione a quella orale senza necessità di aggiustare il dosaggio, permettendo una rapida

dimissione ed un trattamento a domicilio. Inoltre, sebbene in alcune popolazioni speciali di pazienti (es., i bambini, gli ustionati) alcuni autori suggeriscano l'impiego di una terza dose giornaliera, in presenza di insufficienza renale il dosaggio rimane immutato. Può essere necessario, però, aumentare la dose se il paziente è sottoposto a trattamenti emodialitici. In generale, è necessario sottolineare che la scheda tecnica di linezolid prevede il dosaggio di 600 mg 2 volte al giorno, il che significa che qualunque alterazione di tale schema posologico sconfina nella prescrizione off-label del farmaco.

I vantaggi dell'impiego di linezolid rispetto ad esempio ai glicopeptidi come vancomicina è la migliore tollerabilità, sebbene in alcuni casi possa comparire mielosoppressione, specialmente leucopenia e trombocitopenia, dei quali il rischio è legato alla durata del trattamento. Infine, seppur rarissima evenienza, è possibile che la somministrazione di linezolid in associazione a farmaci attivi sul sistema serotoninergico possa essere causa di sindrome serotoninergica, una grave reazione avversa anche mortale, dovuta alla debole capacità di inibizione delle monoaminoossidasi.

Nel corso degli ultimi anni, l'impiego di linezolid ha prodotto una pressione selettiva su ceppi resistenti, dapprima fra gli enterococchi poi raramente in *S. aureus* e successivamente anche in stafilococchi coagulasi-negativi e in *S. pneumoniae*. L'isolamento di ceppi resistenti al farmaco può essere il risultato di una ospedalizzazione prolungata, il trasferimento in vari reparti, soprattutto quelli di terapia intensiva ed i reparti di chirurgia. Altri fattori di rischio per l'insorgenza di resistenze sono rappresentati da terapie antibiotiche cumulative e in particolare uso di carbapenemici o piperacillina-tazobactam e/o cefepime, precedenti infezioni da MRSA, infezioni da VRE in pazienti con malattie vascolari periferiche o in trapiantati e in nutrizione parenterale. Al fine di ridurre il rischio di selezione dei ceppi resistenti al linezolid è oggi prescritto a seguito dell'attenta valutazione del personale medico delle terapie intensive o degli infettivologi.

Più recentemente, daptomicina è stata introdotta nel prontuario farmaceutico per il trattamento di gravi infezioni da *Gram positivi* della cute e degli annessi, di batteriemie e di endocarditi destre, sebbene alcuni recenti studi dimostrino la sua efficacia anche in altre patologie infettive (es., endocarditi sinistre, osteomieliti, possibili focolai infettivi

nel sistemi nervoso centrale, infezioni addominali). Inizialmente gravata da gravi tossicità muscolari, ha trovato nella monosomministrazione giornaliera il miglior schema posologico a dosi variabili da 4 a 8 mg/kg. Sebbene i primi studi abbiano dimostrato una cinetica lineare fino a dosi di 12 mg/kg, è verosimile che in alcuni pazienti si possa assistere ad un profilo plasmatico alterato (es., ustionato). Il vantaggio di daptomicina rispetto a linezolid è la sua spiccata bateriocidia senza batteriolisi, il che permette la rapida risoluzione del focolaio infettivo, anche quando i batteri responsabili sono MRSA e VRE.

Ad oggi non sono ancora stati definiti i breakpoints di resistenza per daptomicina, ma l'attenzione ad un corretto uso del farmaco deve mantenersi inalterato.

La tollerabilità a daptomicina è buona, sebbene sia noto il rischio di tossicità muscolare, anche nella monosomministrazione. Più recentemente, le autorità regolatorie europee hanno emanato un'allerta nella quale si segnalano gravi casi di polmonite eosinofila associata all'uso di daptomicina. I casi si sono verificati dopo 2 settimane di trattamento con il farmaco.

Infine, poiché entrambi i farmaci sono particolarmente costosi, l'appropriatezza del loro impiego è indispensabile per il contenimento della spesa. Infatti, una settimana di terapia con daptomicina risulta più economica solo rispetto a linezolid 600 mg 2 volte/die mentre è più costosa rispetto a teicoplanina 400 mg/die , vancomicina 2 g/die e costa addirittura 6 volte in più di oxacillina 8 g/die. In alcuni casi, però, non è possibile considerare daptomicina o linezolid quali farmaci di seconda linea, per cui il loro impiego deve essere assicurato. Sarebbero necessari studi di farmacoeconomia che potessero valutare oltre al costo diretto della spesa farmaceutica anche i costi di ospedalizzazione per un precedente fallimento terapeutico ed il trattamento delle tossicità da farmaci.

In conclusione, linezolid e daptomicina rappresentano delle valide alternative ai farmaci meno recenti per il trattamento delle gravi infezioni da batteri *Gram positivi*, ma l'appropriatezza prescrittiva rappresenta un indispensabile strumento per minimizzare i rischi di tossicità e di selezione di ceppi resistenti, che negli ultimi anni rappresentano sempre di più il vero ostacolo all'efficacia dei trattamenti chemioterapici.

6) BIBLIOGRAFIA

- AKINS RL, RYBAK MJ: *In vitro* activities of daptomycin, arbekacin, vancomycin, and gentamicin alone and/or in combination against glycopeptides intermediate-resistant *Staphylococcus aureus* in an infection model. *Antimicrob. Agents Chemother* (2000) 44:1925-1929.
- ALAM MM, GOYAL B, VINOD G, GO R, JIIMINEZ VE: Daptomycin for treatment of persistent Gram-Positive bacteremia and infective endocarditis that failed to respond to currently available agents (abstract 396). Presented at the 43rd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. San Francisco (CA) USA (2005).
- ALDER J, ARBEIT R, EISENSTEIN B: Pulmonary epithelial lining fluid (ELF) as a privileged site: daptomycin in pulmonary infections. Presented at the 11th International Congress of Infectious Diseases. Cancun, Mexico (2004). Abstr.60.005.
- ARBEIT RD, MAKI D, TALLY FP et al.: The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections. *Clin. Infect. Dis.* (2004) 38:1673-1681.
- BARRY AL, FUCHS PC, BROWN SD: *In vitro* activities of daptomycin against 2.789 clinical isolates from 11 North American medical centers. *Antimicrob. Agents Chemother.* (2001) 45:1919-1922.
- BENVENUTO M, BENZIGER D, YANKELEV S et al.: Safety and pharmacokinetics of daptomycin at doses up to 12mg/Kg daily. Presented at the 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington (DC) USA (2005).
- BOZDOGAN B, ESEL D, WHITENER C et al.: Antibacterial susceptibility of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated at the Hershey Medical Center. *J. Antimicrob. Chemother.* (2003) 52:864-868.
- BROWN, J. & FREEMAN, B. B., III (2004). Combining quinupristin-dalfopristin with other agents for resistant infections. *Annals of Pharmacotherapy* 38:677-685.
- BYRNES, W. C., P. M. CLARKSON, J. S. WHITE, S. S. HSIEH, P. N. FRYKMAN, and R.J. MAUGHAN. 1985. Delayed onset

muscle soreness following repeated bouts of downhill running. *J. Appl. Physiol.* 59:710-715.

- CANEPARI P, BOARETTI M, LLEO MM et al.: Lipoteichoic acid as a new target for activity of antibiotics: mode of action of daptomycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* (1990). 34:1220-1226.
- CHA R, BROWN WJ, RYBAK MJ: Bactericidal activities of daptomycin, quinupristin-dalfopristin, and linezolid against vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in an *in vitro* pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrob. Agents Chemother.* (2003) 47:3960-3963.
- CHA R, GRUCZ RG Jr, RYBAK MJ: Daptomycin dose-effect relationship against resistant Gram-Positive organism. *Antimicrob. Agents Chemother* (2003). 47:1598-1603.
- CHA R, RYBAK MJ: Influence of protein binding under controlled conditions on the bactericidal activity of daptomycin in an *in vitro* pharmacodynamic model. *J. Antimicrob. Chemother.* (2004). 54:259-262.
- CHURCHWELL MD, PASKO DA, MUELLER BA. Daptomycin clearance during modelled continuous renal replacement therapy. *Blood Purif* (2006) 24:548-554.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 15th Informational Suppl. M100S16 (2006).
- COTTAGNOUD P, PFISTER M, ACOSTA F et al.: Daptomycin is highly efficacious against penicillin-resistant and penicillin quinolone-resistant pneumococci in experimental meningitis. *Antimicrob. Agents Chemother* (2004). 48:3928-3933.
- CRAIG WA, KIEM S, ANDES DR: Effect of protein binding on the antimicrobial activity of daptomycin in sera and albumin solution. Presented at the 42nd *Infectious Diseases Society of America*. Boston (MA) USA (2004). Abstr.302.
- CUBIST PHARMACEUTICALS, INC.: Cubicin (daptomycin) prescribing information. Cubist Pharmaceuticals, Inc., Lexington (MA) USA (2005).
- CUI L, TOMINAGA E, NEHO HM et al.: Correlation between reduced daptomycin susceptibility and vancomycin resi

- stance in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* (2006) 50:1079-1082.
- CUNHA BA, HAMID N, KESSLER H et al.: Daptomycin cure after cefazolin treatment failure of Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) tricuspid valve acute bacterial endocarditis from a peripherally inserted central catheter (PICC) line. *Heart Lung* (2005) 34:69-71.
 - CZOCK D, HUSIG-LINDE C, LANGHOFF A et al.: Pharmacokinetics of moxifloxacin and levofloxacin in intensive care unit patients who have acute renal failure and undergo extended daily dialysis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol* (2006) 1:1263-1268.
 - DANDEKAR PK, TESSIER PR, WILLIAMS P et al.: Determination of the pharmacodynamic profile of daptomycin against *Streptococcus pneumoniae* isolates with varying susceptibility to penicillin in a murine thigh infection model. *Chemotherapy* (2004). 50:11-16.
 - DANDEKAR PK, TESSIER PR, WILLIAMS P et al.: Pharmacodynamic profile of daptomycin against *Enterococcus* species and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a murine thigh infection model. *J. Antimicrob. Chemother.* (2003). 52:405-411.
 - DVORCHIK B, ARBEIT RD, CHUNG J et al.: Population pharmacokinetics of daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* (2004). 48:2799-2807.
 - DVORCHIK B, ARBEIT RD, CHUNG J et al.: Population pharmacokinetics of daptomycin. *Antimicrob. Agents Chemother* (2004). 48:2799-2807.
 - DVORCHIK BH, BRAZIER D, DE BRUIN MF et al.: Daptomycin pharmacokinetics and safety following administration of escalating doses once daily to healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* (2003) 47:1318-1323.
 - DVORCHIK BH, BRAZIER D, DEBRUIN MF et al.: Daptomycin pharmacokinetics and safety following administration of escalating doses once daily to healthy subjects. *Antimicrob. Agents Chemother* (2003). 47:1318-1323.
 - DVORCHIK BH, DAMPHOUSSE D: The pharmacokinetics of daptomycin in moderately obese, morbidly obese, and matched nonobese subjects. *J. Clin. Pharmacol.* (2005). 45:48-56.

- DVORCHIK BH, SICA D, GEHR T: Pharmacokinetics and safety of single-dose daptomycin in subjects with graded renal insufficiency and end-stage renal disease. Presented at the 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington (DC) USA (2002). A-1387.
- FLANDROIS JP, FARDEL G, CARRET G: Early stages of *in vitro* killing curve of LY146032 and vancomycin for *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother* (1988). 32:454-457.
- FLISER D, KIELSTEIN JT: Technology insight: treatment of renal failure in the intensive care unit with extended dialysis. *Nat. Clin. Pract. Nephrol* (2006). 2:32-39.
- FOWLER VC, COSGROVE S, ABRUTYN E et al.: Daptomycin versus standards therapy for *Staphylococcus aureus* bacteremia (SAB) and Infective Endocarditis (SAIE). Presented at the 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington (DC) USA (2005) LB-3884.
- FUCHS PC, BARRY AL, BROWN SD: Daptomycin susceptibility tests: interpretive criteria, quality control, and effect of calcium on *in vitro* tests. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* (2000). 38:51-58.
- FUCHS PC, BARRY AL, BROWN SD: Evaluation of daptomycin susceptibility testing by E-test and the effect of different batches of media. *J. Antimicrob. Chemother.* (2001) 48:557-561.
- FUCHS PC, BARRY AL, BROWN SD: *In vitro* bactericidal activity of daptomycin against staphylococci. *J. Antimicrob. Chemother.* (2002) 49:467-470.
- GARRISON MW, ROTSCHAFER JC, CROSSLEY KB: Suboptimal effect of daptomycin in the treatment of bacteremias. *South. Med. J.* (1989). 82:1414-1415.
- GARRISON MW, VANCE-BRYAN K, LARSON TA et al.: Assessment of effects of protein binding on daptomycin and vancomycin killing of *Staphylococcus aureus* by using an *in vitro* pharmacodynamic model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (1990). 34:1925-1931.
- GIBALDI M., and D. PERRIER. 1982. Pharmacokinetics, 2nd ed. Marcel Dekker, New York, N.Y.

- GOLDSTEIN EJ, CITRON DM, MERRIAM CV *et al.*: Comparative *in vitro* activities of XRP 2868, pristinamycin, quinupristin-dalfopristin, vancomycin, daptomycin, linezolid, clarithromycin, telithromycin, clindamycin, and ampicillin against anaerobic Gram-positive species, actinomycetes, and lactobacilli. *Antimicrob. Agents Chemother.* (2005) 49:408-413.
- GROHS, P., KITZIS, M. D. & GUTMANN, L. (2003). *In vitro* bactericidal activities of linezolid in combination with vancomycin, gentamicin, ciprofloxacin, fusidic acid, and rifampin against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47:418-420.
- HANBERGER H, NILSSON LE, MALLER R *et al.*: Pharmacodynamics of daptomycin and vancomycin on *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus* demonstrated by studies of initial killing and postantibiotic effect and influence of Ca²⁺ and albumin on these drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* (1991). 35:1710-1716.
- HIRSCHWERK D, GINOCCHIO CC, BYTHROW M *et al.*: diminished susceptibility to daptomycin accompanied by clinical failure in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* (2006) 27:315-317.
- JONES RN, CROCO MA, KUGLER KC *et al.*: Respiratory tract pathogens isolated from patients hospitalized with suspected pneumonia: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 1997). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* (2000). 37:115-125.
- KARCHMER, A. W. (1991). *Staphylococcus aureus* and vancomycin: the sequel. *Annals of Internal Medicine* 115:739-741.
- KIELSTEIN JT, CZOCK D, SCHOPKE T *et al.*: Pharmacodynamics and total elimination of meropenem and vancomycin in intensive care unit patients undergoing extended daily dialysis. *Crit. Care Med.* (2006) 34:51-56.
- KING A, PHILLIPS I : The *in vitro* activity of daptomycin against 514 Gram-positive aerobic clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* (2001) 48:219-223.

- LAKEY JH, PTAK M: Fluorescence indicates a calcium-dependent interaction between the lipopeptide antibiotic LY146032 and phospholipid membranes. *Biochemistry* (1988). 27:4639-4645.
- LAPLANTE KL, RYBAK MJ: Clinical glycopeptides-intermediate staphylococci tested against arbekacin, daptomycin, and tigecycline. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* (2004) 50:125-130.
- LECLERCQ R, BINGEN E, SU QH et al.: Effects of combinations of beta-lactams, daptomycin, gentamycin, and glycopeptides against glycopeptides-resistant enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother* (1991). 35:92-98.
- LEE BL, CHAMBERS HF, NOVAK RM et al.: Daptomycin versus conventional therapy in the treatment of endocarditis and bacteremia. Presented at the 31st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago (IL) USA (1991) 885.
- LEE BL, SACHDEVA M, CHAMBERS HF: Effect of protein binding of daptomycin on MIC and antibacterial activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (1991). 35:2505-2508.
- LEE SY, KUTI JL, NICOLAU DP: Antimicrobial management of complicated skin structure infections in the era of emerging resistance. *Surg. Infect.* (2005). 6:283-295.
- LEVINE DP, LAMP KC: Endocarditis treated with daptomycin; experience from a registry (abstract 359). Presented at the 43rd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. San Francisco (CA) USA (2005).
- LEWIS JS, 2ND, OWENS A, CADENA J et al.: Emergence of daptomycin resistance in *Enterococcus faecium* during daptomycin therapy. *Antimicrob. Agents Chemother* (2005) 49:1664-1665.
- LIEBOWITZ LD, SAUNDERS J, CHALKLEY LJ et al: *In vitro* selection of bacteria resistant to LY146032, a new cyclic lipopeptide. *Antimicrob. Agents Chemother.* (1988) 32:24-26.
- LONG JK, CHOUERI TK, HALL GS et al.: Daptomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a patient with acute myeloid leukemia. *Mayo Clin. Proc.* (2005) 80:1215-1216.

- LOUIE A, KAW P, LIU W et al.: Pharmacodynamics of daptomycin in a murine thigh model of *Staphylococcus aureus* infection. *Antimicrob. Agents Chemother* (2001). 45:845-851.
- MAGET-DANA R, PEYPOUX F: Iturins, a special class of pore-forming lipopeptides: biological and physicochemical properties. *Toxicology* (1994). 87:151-174.
- MANGILI A, BICA I, SNYDMAN DR et al.: Daptomycin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin. Infect. Dis.* (2005) 40:1058-1060.
- MARTY FM, YEH WW, WENNRSTEN CB et al.: Emergence of a clinical daptomycin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and osteomyelitis. *J. Clin. Microbiol.* (2006) 44:595-597.
- MICHIELS MJ, BERGERON MG. Differential increased survival of staphylococci and limited ultrastructural changes in the core of infected fibrin clots after daptomycin administration. *Antimicrob. Agents Chemother* (1996) 40:203-211.
- MOHAN SS, MCDERMOTT BP, CUNHA BA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prosthetic aortic valve endocarditis with paravalvular abscess treated with daptomycin. *Heart Lung* (2005) 34:69-71.
- OLESON FB Jr, BERMAN CL, KIRKPATRICK JB et al: Once-daily dosing in dogs optimizes daptomycin safety. *Antimicrob. Agents Chemother* (2000) 44:2948-2953.
- OLESON, F.B., Jr., C.L. BERMAN, J.B. KIRKPATRICK, K.S. REGAN, J.J. LAI, and F.P. TALLY. 2000. Once daily dosing in dogs optimizes daptomycin safety. *Antimicrob. Agents Chemother* (2000). 44:2948-2953.
- PANKEY G, ASHCRAFT D, PATEL N: *In vitro* synergy of daptomycin plus rifampin against *Enterococcus faecium* resistant to both linezolid and vancomycin. *Antimicrob. Agents Chemother* (2005). 49:5166-5168.
- PETERSEN PJ, BRADFORD PA, WEISS WG et al.: *In vitro* and *in vivo* activities of tigecycline (GAR-936), daptomycin, and comparative antimicrobial agents-against glycopeptides-intermediate *Staphylococcus aureus* and other resistant Gram-positive pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother* (2002) 46:2595-2601.

- RAND KH, HOUCK H: Daptomycin synergy with rifampicin and ampicillin against vancomycin-resistant enterococci. *J. Antimicrob. Chemother* (2004). 53:530-532.
- RAND KH, HOUCK HJ: Sinergy of daptomycin with oxacillin and other betalactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother* (2004) 48:2871-2875.
- RYBAK MJ, BAILEY EM, LAMP KC et al.: Pharmacokinetics and bactericidal rates of daptomycin and vancomycin in intravenous drug abusers being treated for Gram-Positive endocarditis and bacteremia. *Antimicrob. Agents Chemother*. (1992). 36:1109-1114.
- RYBAK MJ, HERSHBERGER E, MOLDOVAN T et al.: *In vitro* activities of daptomycin, vancomycin, linezolid, and quinupristin-dalfopristin against Staphylococci and Enterococci, including vancomycin-intermediate and resistant strains. *Antimicrob. Agents Chemother*. (2000). 44:1062-1066.
- RYBAK MJ, MCKINNON P, CHA R, DVORCHIK BH: Daptomycin Pharmacodynamics (PD) versus MRSA at various doses as assessed by a Monte Carlo prediction model. Presented at the 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington (DC) USA (2001). A-2195.
- SADER HS, FRITSCHKE TR, JONES RN: Antimicrobial activity of daptomycin tested against clinical strains of indicated species isolated in North American medical centers (2003). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* (2005) 53:329-332.
- SAFDAR N, ANDES D, CRAIG WA: *In vivo* pharmacodynamic activity of daptomycin. *Antimicrob. Agents Chemother* (2004). 48:63-68.
- SAKOULAS G, RUSSO R, LAMP KC, FRIEDRICH LV: Daptomycin in the treatment of non-catheter related bacteremia (abstract 375). Presented at the 43rd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. San Francisco (CA) USA (2005).
- SAKOULOS G, ALDER J, THAUVIN-ELIOPOULOS C et al.: Induction of daptomycin heterogeneous susceptibility in *Staphylococcus aureus* by exposure to vancomycin. *Antimicrob. Agents Chemotherapy* (2006) 50:1581-1585.

- SCHEETZ M, REDDY P, POSTELNICK M *et al.*: *In vivo* synergy of daptomycin plus a penicillin agent for MRSA? *J. Antimicrob. Chemother.* (2005) 55:398-399.
- SEGRETI J, CRANK CW, FINNEY MS: Daptomycin for treatment of drug-resistant Gram-Positive bacteremia and infective endocarditis (abstract 425). Presented at the 43rd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. San Francisco (CA) USA (2005).
- SHAH MM, MURILLO JL: Successful treatment of *Corynebacterium striatum* endocarditis with daptomycin plus rifampin. *Ann. Pharmacother.* (2005) 39:1741-1743.
- SILVERMAN JA, MORTIN LI, VANPRAAGH AD *et al.*: Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: *in vitro* modelling and clinical impact. *J. Infect. Dis.* (2005). 191:2149-2152.
- SILVERMAN JA, OLIVER N, ANDREW T *et al.*: Resistance studies with daptomycin. *Antimicrob. Agents Chemother* (2001) 45:1779-1802.
- SILVERMAN JA, PERLMUTTER NG, SHAPIRO HM: Correlation of daptomycin bactericidal activity and membrane depolarization in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* (2003). 47:2538-2544.
- SILVERMAN JA: Progress towards understanding the molecular basis of daptomycin resistance. Presented at the 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington (DC) USA (2005).
- SNYDMAN DR, JACOBUS NV, MCDERMOTT LA *et al.*: Comparative *in vitro* activities of daptomycin and vancomycin against resistant Gram-Positive pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* (2000). 44:3447-3450.
- STEENBERGEN JN, ALDER J, THORNE GM *et al.*: Daptomycin: a lipopeptide antibiotic for the treatment of serious Gram-Positive infections. *J. Antimicrob. Chemother.* (2005). 55:283-288.
- STEVENS, D. L., HERR, D., LAMPIRIS, H. *et al.*: (2002). Linezolid versus vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Clinical Infectious Diseases* 34:1481-1490.

- STREIT JM, JONES RN, SADER HS: Daptomycin activity and spectrum: a worldwide sample of 6737 clinical Gram-positive organisms. *J. Antimicrob. Chemother* (2004) 53:669-674.
- TALLY F. P., OLESON F. B., BERMAN C. L. et al.: Daptomycin treatment of serious Gram-Positive infections. In *Abstracts of the Tenth European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Stockholm, Sweden, (2000)*. Abstract WeP233:8/1. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Basel, Switzerland*.
- TALLY FP, DEBRUIN MF: Development of daptomycin for Gram-Positive infections. *J. Antimicrob. Chemother.* (2000). 46:523-526.
- TALLY FP, ZECKEL M, WASILESKI MM et al.: Daptomycin: a novel agent for Gram-Positive infections. *Expert Opin. Investig. Drugs* (1999). 8:1223-1238.
- TSUJI BR, CHEUNG CM, AMAJAD M: Activity of daptomycin, clindamycin, linezolid, teicoplanin, trimethoprim-sulfamethoxazole and vancomycin against community and hospital associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Presented at the 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington (DC) USA (2005) 50:125-130.
- TSUJI BT, RYBAK MJ: Short-course gentamicin in combination with daptomycin or vancomycin against *Staphylococcus aureus* in an *in vitro* pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrob. Agents Chemother* (2005) 49:2735-2745.
- VAN DER AUWERA P: *Ex vivo* study of serum bactericidal titers and killing rates of daptomycin (LY146032) combined or not combined with amikacin compared with those of vancomycin. *Antimicrob. Agents Chemother* (1989). 33:1783-1790.
- VANCE-BRYAN K, LARSON TA, ROTSCHAFER JC et al.: Investigation of the early killing of *Staphylococcus aureus* by daptomycin by using an *in vitro* pharmacodynamic model. *Antimicrob. Agents Chemother* (1992). 36:2334-2337.
- VIKRAM HR, HAVILL NL, KOETH LM et al.: Clinical progression of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* vertebral osteomyelitis associated with reduced

- susceptibility to daptomycin. *J. Clin. Microbiol.* (2005) 43:5384-5387
- WATANAKUNAKORN C: *In vitro* activity of LY 146032, a novel cyclic lipopeptide, alone and in combination with gentamicin or tobramycin against enterococci. *J. Antimicrob. Chemother* (1987). 19:445-448.
 - WISE R, ANDREWS JM, ASHBY JP: Activity of daptomycin against Gram-Positive pathogens: a comparison with other agents and the determination of a tentative breakpoint. *J. Antimicrob. Chemother.* (2001). 48:563-567
 - WISE R, GEE T, ANDREWS JM *et al.*: Pharmacokinetics and inflammatory fluid penetration of intravenous daptomycin in volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother* (2002). 46:31-33.
 - WISE, R., A. P. GILLETT, B. CADGE, R. DURHAM, and S. BAKER. 1980. The influence of protein binding upon tissue fluid levels of six β lactam antibiotics. *J. Infect. Dis.* 142:77-82.
 - WOODWORTH JR, NYHART EH Jr, BRIER GL *et al.*: Single-dose pharmacokinetics and bacterial activity of daptomycin, a new lipopeptide antibiotic, in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother* (1992). 36:318-325.
 - WOODWORTH, J.R., E.H. NYHART, Jr., G.L. BRIER, J. D. WONLY, and H.R. BLACK. 1992. Single-dose pharmacokinetics and antibacterial activity of daptomycin, a new lipopeptide antibiotic, in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:318-325.
 - WOOTTON MW, TR WALSH, AP MACGOWAN: Daptomycin and vancomycin susceptibilities in vancomycin susceptible *Staphylococcus aureus* (VSSA) and heterogeneous vancomycin intermediate *S. aureus* (hVISA) strains. . Presented at the 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington (DC) USA (2005) E-1752.
 - WU M, MAIER E, BENZ R *et al.*: Mechanism of interaction of different classes of cationic antimicrobial peptides with planar bilayers and with the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. *Biochemistry* (1999). 38:7235-7242.